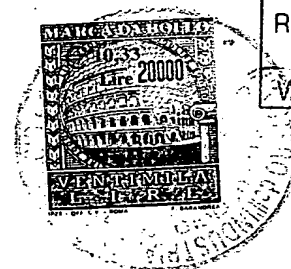




# MINISTERO DELL'INDUSTRIA, DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO

DIREZIONE GENERALE DELLA PRODUZIONE INDUSTRIALE  
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI



REC'D 05 JUL 2000

WIPO

PCT

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per INV. IND.

N. MI99 A 000752

*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali  
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati  
risultano dall'accluso processo verbale di deposito*

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Roma, li 27.02.2000

IL DIRETTORE DELLA DIVISIONE

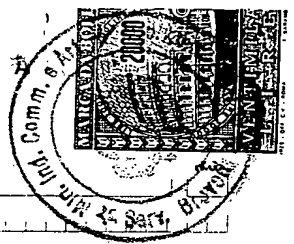
Ing. Romano

Q10410

Romano

AL MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO  
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA  
DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE. DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODULO 7



A. RICHIEDENTE (I)

NICOX S.A.

1) Denominazione

PARIGI (FR)

Residenza

codice

2) Denominazione

Residenza

codice

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome e nome

RIVA ALESSANDRO

cod. fiscale

0000010441370151

denominazione studio di appartenenza

SAMA PATENTS

via G.B. MORGAGNI

n.

2

città

MILANO

cap.

20129

(prov.) MI

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via

n.

città

cap.

(prov)

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/sci)

gruppo/sottogruppo

"COMPOSTI FARMACEUTICI"

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA

N° PROTOCOLLO

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

1)

DEL SOLDATO PIERO

3)

2)

4)

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato S/R

SCIoglimento RISERVE

Data

N° Protocollo

1)

2)

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICRORGANISMI; denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. 1)

PROV

n. pag.

117

riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)

Doc. 2)

PROV

n. tav.

disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare)

Doc. 3)

RIS

lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale

Doc. 4)

RIS

designazione inventore

Doc. 5)

RIS

documenti di priorità con traduzione in italiano

Doc. 6)

RIS

autorizzazione o atto di cessione

Doc. 7)

RIS

documenti di priorità con traduzione in italiano

SCIoglimento RISERVE

Data

N° Protocollo

confronta singole priorità

8) attestati di versamento, totale lire

UN MILTONEQUATTROCENTOQUINDICIMILA=

obbligatorio

COMPILATO IL 13 04 1999

FIRMA DEL (I) RICHIEDENTE (I)

P. NICOX S.A.

CONTINUA S/NO NO

SAMA PATENTS (RIVA ALESSANDRO)

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA S/NO SI

UFFICIO PROVINCIALE IND. COMM. ART. DI

MILANO

codice 15

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

MI99A 000752

Reg. A

L'anno millenovecento

NOVANTANOVE

il giorno

TREDICI

del mese di

APRILE

il (I) richiedente (i) sopraindicato (i) ha (hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredate di n. 00 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopraportato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIO ROGANTE

*[Signature]*  
IL DEPOSITANTE

timbro  
dell'ufficio

*[Signature]*  
L'UFFICIALE ROGANTE  
CORTONE SI MAURIZIO

## RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE, DESCRIZIONE E RIVENDICAZIONE

NUMERO DOMANDA

MI 99 A 000352

REG. A

DATA DI DEPOSITO

3 04 1999 HF 2040/061

NUMERO BREVETTO

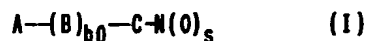
DATA DI RILASCIO

## D. TITOLO

"COMPOSTI FARMACEUTICI"

## L. RIASSUNTO

COMPOSTI O LORO SALI AVENTI LE SEGUENTI FORMULE GENERALI (I) E (II):



IN CUI:

s è un intero uguale ad 1 o 2, preferibilmente s = 2;

b0 = 0 oppure 1;

A è il radicale di un farmaco ed è tale da soddisfare i test farmacologici riportati nella descrizione,

C e C<sub>1</sub> sono due radicali bivalenti.I precursori dei radicali B e di B<sub>1</sub> sono tali da soddisfare il test farmacologico riportato nella descrizione.

## M. DISEGNO



Descrizione dell'invenzione industriale a nome:

NICOX S.A., di nazionalità francese, con sede in 45 Avenue Kléber, 75116 Parigi - Francia.

MI99 A 000752

\* \* \* \* \*

13 APR 1999

La presente invenzione riguarda nuovi farmaci ad uso sistemico e non, e relative composizioni, da utilizzarsi nelle condizioni di stress ossidativo e/o disfunzioni endoteliali.

Per stress ossidativo si intende la generazione di radicali liberi o sostanze radicaliche, le quali causano la distruzione della cellula e del tessuto circostante (Pathophysiology: the biological basis for disease in adults and children, McCance & Huether 1998 pagg. 48-54).

Per disfunzioni endoteliali si intendono quelle a carico dell'endotelio vasale. Il danno all'endotelio vasale è riconosciuto come uno degli eventi maggiori in grado di scatenare una serie di processi patologici a carico di organi ed apparati diversi, come qui di seguito descritto (Pathophysiology: The biological basis for disease in adults and children, McCance & Huether 1998 pag. 1025).

Come noto, lo stress ossidativo e/o le disfunzioni endoteliali sono associati a svariate patologie come riportato qui di seguito. Lo stress ossidativo è anche provocato dalla tossicità di un gran numero di farmaci che influenza in modo significativo il rendimento (performance) di molte categorie di farmaci.

Le situazioni patologiche sono di natura cronica, debilitante e sono tipiche dei soggetti anziani. Come già detto in queste condizioni patologiche i farmaci utilizzati per le specifiche indicazioni terapeutiche per cui sono prescritti e commercializzati, presentano una performance, come sopra definita, notevolmente peggiorata.

Esempi di situazioni patologiche causate dallo stress ossidativo e/o dalle disfunzioni endoteliali, oppure presenti negli anziani sono le seguenti:

- Per il sistema cardiovascolare: ischemia miocardica e vascolare in genere, ipertensione, stroke, arteriosclerosi, ecc.
  - Per il tessuto connettivo: artrite reumatoide e malattie infiammatorie collegate, ecc.
  - Per il sistema polmonare: asma e malattie infiammatorie collegate, ecc.
  - Per il sistema gastrointestinale: dispepsia ulcerativa e non, malattie infiammatorie intestinali, ecc.
- 
- Per il sistema nervoso centrale: morbo di Alzheimer, ecc.
  - Per il sistema urogenitale: impotenza, incontinenza.
  - Per il sistema cutaneo: eczema, neurodermatite, acne.
  - Le malattie infettive in genere (rif.: Schwarz-KB, Brady "Oxidative stress during viral infection: A review" Free radical Biol. Med. 21/5, 641-649 1996).

Va inoltre menzionato il processo di invecchiamento del-

l'organismo, ~~o~~ può ritenersi una vera ~~e~~ propria condizione patologica (ref. Pathophysiology: the biological basis for disease in adults and children, pagg. 71-77).

I farmaci noti utilizzati per le specifiche indicazioni terapeutiche per cui sono prescritti e commercializzati, quando sono somministrati a pazienti con patologie associate a stress ossidativo e/o a disfunzioni endoteliali mostrano minore attività e/o maggiore tossicità.

Questo si verifica per esempio per farmaci di uso comune, come antiinfiammatori, cardiovascolari, farmaci dell'apparato respiratorio, farmaci del sistema nervoso centrale, farmaci del sistema osseo, antibiotici, urogenitali, endocrini, ecc.

La ricerca farmaceutica ~~è indirizzata alla individuazione~~ di nuove molecole che ~~abbiano aumentato indice terapeutico~~ (rapporto efficacia/tossicità) o diminuito rapporto rischio/beneficio ~~anche in condizioni patologiche come quelle~~ sopra indicate, nelle quali l'indice terapeutico di un gran numero di farmaci risulta diminuito. Infatti nelle condizioni di stress ossidativo e/o di disfunzioni endoteliali sopra indicati i farmaci mostrano attività inferiore e/o tossicità superiore.

Ad esempio gli antiinfiammatori, come NSAIDs ed anticolitici, fra cui 5-aminosalicilico e suoi derivati, mostrano gli svantaggi qui indicati. I NSAIDs risultano tossici in particolare quando l'organismo è debilitato o affetto da condizioni

morbose associate stress ossidativo. Dette condizioni sono ad esempio le seguenti: l'età, ulcera pre-esistente, sanguinamento gastrico pre-esistente, malattie croniche debilitanti quali in particolare quelle a carico degli apparati cardiovascolare, renale, a carico della crasi ematica, ecc. (Misoprostol reduces serious gastrointestinal complications in patients with rheumatoid arthritis receiving non-steroidal anti-inflammatory drugs. A randomized, double blind, placebo-controlled trial. F.E. Silverstein et Al., Ann. Intern. Med. 123/4, 241-9, 1995; Martindale 31a ed. 1996, pag. 73, Current Medical Diagnosis and Treatment 1998, pagg. 431 e 794).

La somministrazione di antiinfiammatori a pazienti nelle condizioni patologiche sopra indicate può avvenire solo a dosi inferiori per evitare fenomeni rilevanti di tossicità. In questo caso l'attività antiinfiammatoria del farmaco risulta scarsamente efficace.

I beta-bloccanti, usati per il trattamento dell'angina, dell'ipertensione e delle aritmie cardiache, presentano effetti collaterali a carico dell'apparato respiratorio (dispnea, broncocostrizione), e quindi possono creare problemi in pazienti affetti da patologie a questi organi (asma, bronchite). Pertanto i beta bloccanti aggravano ulteriormente le patologie respiratorie, ad esempio l'asma. Quindi in pazienti asmatici si devono utilizzare dosi ridotte per non compromettere ancora di più la funzionalità respiratoria. Lo svantaggio è che l'ef-



ficacia dei beta bloccanti risulta molto bassa.

Gli antitrombotici, quali ad es. dipiridamolo, aspirina, ecc., usati per la prevenzione dei fenomeni trombotici mostrano i seguenti svantaggi. In pazienti affetti da patologie legate a stress ossidativo e/o disfunzioni endoteliali, l'azione terapeutica di questi farmaci o la loro tollerabilità, come nel caso dell'aspirina sono fortemente ridotte.

I broncodilatatori ad es. salbutamolo, ecc., vengono usati nel trattamento dell'asma e della bronchite. La loro somministrazione può essere accompagnata alla comparsa di effetti collaterali a carico dell'apparato cardiovascolare causando problemi a pazienti cardiopatici o ipertesi, patologie associate, come detto sopra, allo stress ossidativo e/o disfunzione endoteliale. Pertanto anche questi farmaci mostrano gli stessi svantaggi di quelli indicati sopra.

Gli espettoranti e mucolitici, che vengono usati nella terapia di stati infiammatori delle vie respiratorie, mostrano svantaggi nei pazienti affetti dalle condizioni sopra descritte. La loro somministrazione può dare luogo a bruciori e irritabilità gastrica, particolarmente nell'anziano.

Gli inibitori del riassorbimento osseo, come difosfonati (ad es. alendronato, ecc.), sono farmaci che presentano elevata tossicità gastrointestinale. Pertanto anche questi farmaci mostrano gli stessi svantaggi di quelli indicati sopra.

Gli inibitori fosfodiesterasici, come ad esempio sildena-



fil, zaprinast, utilizzati nelle disfunzioni del sistema cardiovascolare e respiratorio, sono caratterizzati da problemi simili in termini di tollerabilità e/o di efficacia nelle condizioni patologiche indicate.

Gli antiallergici, ad es. cetirizina, montelukast, ecc. presentano problemi simili nelle condizioni patologiche indicate, in particolare in termini di efficacia.

Gli anti-angiotensinici, fra cui gli ACE-inibitori, ad es. enalapril, captopril, ecc., e gli inibitori recettoriali ad es. losartan, ecc., vengono usati nel trattamento delle malattie cardiovascolari. Hanno lo svantaggio di dar luogo anche ad effetti collaterali a carico dell'apparato respiratorio (tosse, ecc.) nelle condizioni patologiche indicate.

Gli antidiabetici insulino-sensibilizzanti e ipoglicemizzanti, come ad es. sulfoniluree, tolbutamide, glipiride, gliclazide, gliburide, nicotinamide ecc., non sono in grado di prevenire le complicanze diabetiche. La loro somministrazione può dare luogo ad effetti collaterali, come ad esempio lesioni gastriche. Questi fenomeni sono accentuati nelle condizioni patologiche sopra indicate.

Gli antibiotici, ad es. ampicillina, claritromicina, ecc., e gli antivirali, aciclovir, ecc., presentano problemi per quanto riguarda la tollerabilità, ad es. provocano la comparsa di irritabilità gastrointestinale.

Gli antitumorali, ad es. doxorubicina, daunorubicina,

cisplatino, ec hanno elevata tossicità, carico di organi diversi, fra cui stomaco ed intestino. Questa é ulteriormente aggravata nelle patologie sopra indicate.

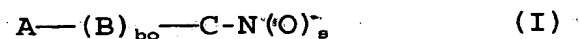
I farmaci anti-demenza ad es. nicotina e colinomimetici, sono caratterizzati da una scarsa tollerabilità soprattutto nelle patologie sopra indicate.

Era sentita l'esigenza di avere a disposizione farmaci che mostrassero una performance terapeutica migliorata, intesa come minore tossicità e/o maggiore efficacia, tali da poter essere utilizzati in pazienti in condizioni di stress ossidativo e/o di disfunzioni endoteliali, senza presentare gli svantaggi dei farmaci noti nell'arte.

E' stato ora sorprendentemente ed inaspettatamente trovato che i problemi evidenziati nella somministrazione di farmaci a pazienti in condizioni di stress ossidativo e/o di disfunzioni endoteliali, o a pazienti anziani in generale, vengono risolti mediante una nuova classe di farmaci come qui di seguito descritta.

---

Costituiscono un oggetto dell'invenzione composti o loro sali aventi le seguenti formule generali (I) e (II):



in cui:

s é un intero uguale ad 1 o 2, preferibilmente s = 2;

b<sub>0</sub> = 0 oppure 1;

A = R-T<sub>1</sub>-, in cui

R é il radicale del farmaco e

$T_1 = (CO)_t$  oppure  $(X)_{t'}$ , dove  $X = O, S, NR_{1c}, R_{1c}$  é H oppure un alchile lineare o ramificato, avente da 1 a 5 atomi di carbonio, oppure una valenza libera,  $t$  e  $t'$  sono interi ed uguali a zero oppure 1, con la condizione che  $t = 1$  quando  $t' = 0$ ;  $t = 0$  quando  $t' = 1$ ;

B =  $-T_B-X_2-T_{BI}-$  in cui

$T_B$  e  $T_{BI}$  sono uguali o diversi;

$T_B = (CO)$  quando  $t = 0$ ,  $T_B = X$  quando  $t' = 0$ , essendo X come sopra definito;

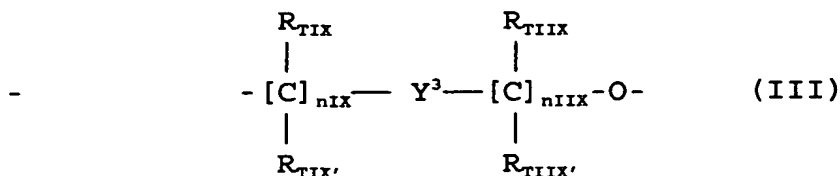
$T_{BI} = (CO)_{tx}$  oppure  $(X)_{txx}$ , in cui  $tx$  e  $txx$  hanno il valore di 0 oppure 1; con la condizione che  $tx = 1$  quando  $txx = 0$ ; e  $tx = 0$  quando  $txx = 1$ ; X é come sopra definito;

$X_2$  é un pontante bivalente come sotto definito;

C é il radicale bivalente  $-T_c-Y-$ , in cui

$T_c = (CO)$  quando  $tx = 0$ ,  $T_c = X$  quando  $txx = 0$ , essendo X come sopra definito;

Y é:



in cui:

$nIX$  é un intero compreso tra 0 e 3, preferibilmente 1;



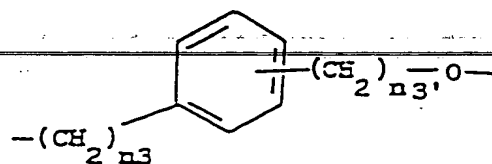
nIIX é un intero compreso tra 1 e 3, preferibilmente 1;

$R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$ , uguali o diversi tra loro sono H oppure alchile lineare o ramificato  $C_1-C_4$ ; preferibilmente  $R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$  sono H.

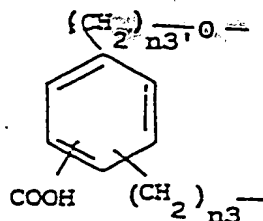
$Y^3$  é un anello eterociclico contenente uno o due atomi di azoto, saturo, insaturo o aromatico, a 5 o 6 atomi,

oppure Y é  $Y_0$ , scelto tra i seguenti:

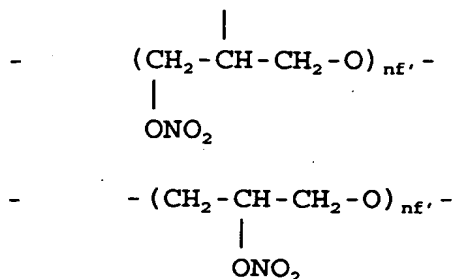
- un gruppo alchilenossi  $R'O$  in cui  $R'$  é  $C_1-C_{20}$  lineare o ramificato quando possibile, avente preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio, oppure un cicloalchilene avente da 5 a 7 atomi di carbonio, nell'anello cicloalchilenico uno o più atomi di carbonio possono essere sostituiti da eteroatomi, l'anello può avere catene laterali di tipo  $R'$ , essendo  $R'$  come sopra definito; oppure



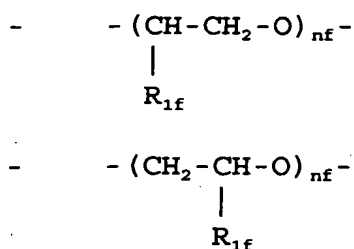
in cui  $n_3$  é un intero da 0 a 3 ed  $n_{3'}$  é un intero da 1 a 3;



in cui  $n_3$  ed  $n_3'$  hanno il significato sopra indicato



in cui  $nf'$  è un intero da 1 a 6 preferibilmente da 1 a 4;



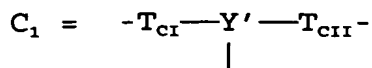
in cui  $\text{R}_{1f} = \text{H}, \text{CH}_3$  e  $nf$  è un intero da 1 a 6; preferibilmente da 1 a 4;

preferibilmente  $\text{Y} = \text{Y}_0 = -\text{R}'\text{O}-$  in cui  $\text{R}'$  è come sopra definito, preferibilmente  $\text{R}'$  è un alchile  $\text{C}_1 - \text{C}_6$ ;




---

in cui:



in cui  $\text{T}_{\text{CI}}$  e  $\text{T}_{\text{CII}}$  sono uguali o diversi,

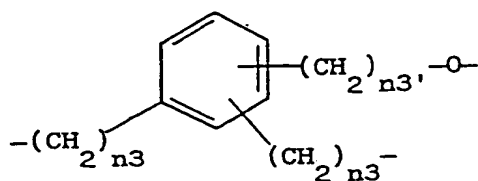
$\text{T}_{\text{CI}} = (\text{CO})$  quando  $t = 0$ ,  $\text{T}_{\text{CI}} = \text{X}$  quando  $t' = 0$ , essendo  $\text{X}$  come sopra definito;

$\text{T}_{\text{CII}} = (\text{CO})_{t\text{I}}$  oppure  $(\text{X})_{t\text{II}}$ , in cui  $t\text{I}$  e  $t\text{II}$  hanno il valore di 0 oppure 1; con la condizione che  $t\text{I} = 1$

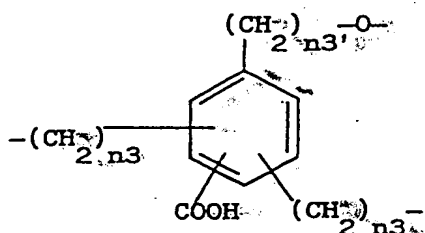
quando  $t_{II} = 0$ ;  $t_I = 0$  quando  $t_{III} = 1$  è come sopra definito;

$Y'$  è come  $Y$  sopra definito, ma con tre valenze libere invece di due, preferibilmente:

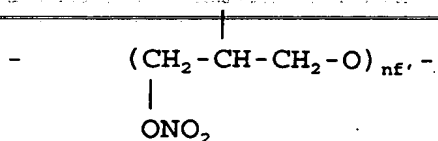
- un gruppo  $-R'O-$  in cui  $R'$  è come sopra definito, preferibilmente un alchile da 2 a 6 atomi di carbonio; oppure



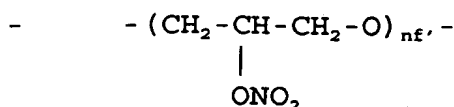
in cui  $n_3$  è un intero da 0 a 3 ed  $n_3'$  è un intero da 1 a 3;



in cui  $n_3$  ed  $n_3'$  hanno il significato sopra indicato;

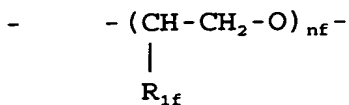


in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio è sostituito da una valenza libera;

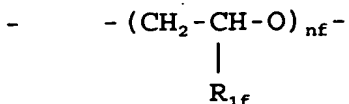


in cui  $nf'$  è un intero da 1 a 6 preferibilmente da 1

a 4; in un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una valenza libera;

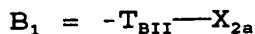


in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una valenza libera;



in cui  $\text{R}_{1\text{f}} = \text{H}, \text{CH}_3$  e  $\text{nf}$  è un intero da 1 a 6; preferibilmente da 1 a 4; in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una valenza libera;

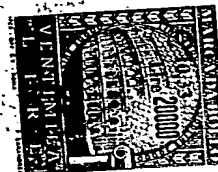
preferibilmente  $\text{Y}' = -\text{R}'\text{O}-$  in cui  $\text{R}'$  é  $\text{C}_2-\text{C}_4$  lineare o ramificato, l'ossigeno che in  $\text{Y}'$  é legato covalentemente al gruppo  $-\text{N}(\text{O})$ , si trova all'estremità del legame libero indicato nella formula di  $\text{C}_1$ ;



in cui  $\text{X}_{2\text{a}}$  é un radicale monovalente come sotto definito,

$\text{T}_{\text{BII}} = (\text{CO})$  quando  $\text{tI} = 0$ ,  $\text{T}_{\text{BII}} = \text{X}$  quando  $\text{tII} = 0$ , essendo  $\text{X}$  come sopra definito;

- $\text{X}_2$ , radicale bivalente, é tale che il corrispondente precursore di  $\text{B}$ ,  $-\text{T}_{\text{B}}-\text{X}_2-\text{T}_{\text{BI}}-$  soddisfi il test 5 ma non il test 4, precursore in cui le valenze libere di  $\text{T}_{\text{B}}$  e di  $\text{T}_{\text{BI}}$  sono saturate ciascuna con  $-\text{OZ}$ ,  $-\text{Z}$ , oppure con  $-\text{Z}^{\text{I}}-\text{N}-\text{Z}^{\text{II}}$ , essendo  $\text{Z}^{\text{I}}$  e  $\text{Z}^{\text{II}}$  uguali o diversi e hanno i valori di  $\text{Z}$



- come sotto definito, a seconda che  $T_B$  e/o  $T_{BI} = CO$  oppure  $X$ , in funzione dei valori di  $t$ ,  $t'$ ,  $tx$  e  $txx$ ;
- il precursore di  $C$  quando  $b_0 = 0$  è del tipo  $-T_C-Y-H$  in cui la valenza libera di  $T_C$  è saturata con  $-OZ$ ,  $-Z$ , oppure con  $-Z^I-N-Z^{II}$ , essendo  $Z^I$  e  $Z^{II}$  come sopra definiti,
 

$\begin{array}{c} | \\ \text{soddisfa il test 5;} \end{array}$
  - $X_{2a}$  radicale monovalente, tale che il corrispondente precursore di  $B_1$   $-T_{BII}-X_{2a}$  soddisfi il test 5 ma non il test 4, precursore in cui la valenza libera di  $T_{BII}$  è saturata con  $-OZ$ ,  $-Z$  con  $-Z^I-N-Z^{II}$ , essendo  $Z^I$  e  $Z^{II}$  uguali o diversi e hanno i valori di  $Z$  come sotto definito, a seconda che  $T_{BII} = CO$  oppure  $X$ , in funzione dei valori di  $tI$  e  $tII$ ;
  - il farmaco  $A = R-T_1$ , in cui la valenza libera è saturata come di seguito indicato:
    - quando  $t' = 0$  con:
      - $O-Z$  in cui  $Z = H$  oppure  $R_{1a}$ , essendo  $R_{1a}$   $C_1-C_{10}$  = alchile lineare o ramificato quando possibile, preferibilmente  $C_1-C_5$ , oppure con  $Z^I-N-Z^{II}$ , essendo  $Z^I$  e  $Z^{II}$  come
 

$\begin{array}{c} | \\ \text{sopra definiti;} \end{array}$
      - quando  $t = 0$  con  $-Z$ , in cui  $Z$  è come sopra definito, con la condizione che il farmaco non sia uno steroide,

è tale da soddisfare ad almeno uno dei test 1-3;



in cui il test (NEM) é un test in vivo eseguito su due gruppi di ratti di cui uno solo é trattato con una dose di 25 mg/kg s.c. di N-etilmaleimmide (NEM), somministrando a ognuno dei due gruppi il solo veicolo o il veicolo + il farmaco A = R-T<sub>1</sub>- in cui la valenza é saturata come sopra indicato, somministrando il farmaco a una dose equivalente a quella massima tollerabile dai ratti non pretrattati con NEM, vale a dire la dose più alta somministrabile all'animale alla quale non si abbia tossicità manifesta cioè osservabile sintomaticamente; il farmaco soddisfa il test 1, cioè può essere utilizzato per preparare i composti di formula generale (I) e (II), quando il gruppo di ratti trattati con NEM e farmaco presenta danni gastrointestinali, o nel gruppo trattato con NEM e farmaco si riscontrano danni gastrointestinali maggiori rispetto al gruppo trattato con il solo veicolo, al gruppo trattato con veicolo + farmaco, al gruppo trattato con veicolo + NEM;

in cui il test 2 (CIP) é un test in vitro in cui cellule endoteliali umane della vena ombelicale vengono coltivate in condizioni standard, divise in due gruppi, di cui uno é trattato con una dose del farmaco a concentrazione  $10^{-4}$  M, l'altro gruppo con il veicolo; poi si somministra ai due gruppi una concentrazione 5 mM di CIP (cumene idroperossido), ogni prova é ripetuta 5 volte; il farmaco soddisfa il test, cioè può essere utilizzato per preparare i composti di formula generale

(I) e (II), se non si ottiene una inibizione della apoptosi (danno cellulare) indotta da CIP statisticamente significativa con  $p < 0,01$  rispetto al gruppo trattato con il veicolo e CIP;

in cui il test 3 (L-NAME:) é un test in vivo eseguito su due gruppi di ratti di cui uno solo riceve per 4 settimane acqua da bere con N- $\omega$ -nitro-L-arginina metil estere (L-NAME) alla concentrazione di 400 mg/litro, somministrando a ognuno dei due gruppi il solo veicolo o il veicolo + il farmaco, somministrando il farmaco una volta al giorno alla dose massima tollerabile dal gruppo di ratti non pretratto con L-NAME, vale a dire la dose più alta somministrabile agli animali alla quale non si abbia tossicità manifesta cioè osservabile sintomatologicamente, determinando la pressione ematica 24 ore dopo la somministrazione del farmaco, la glutammico piruvico transaminasi del plasma (GPT) ed esaminando il tessuto gastrico; il farmaco soddisfa il test 3, cioè può essere utilizzato per preparare i composti di formula generale (I) e (II), quando nel gruppo di ratti trattati con L-NAME e il farmaco si ri-

---

scontrano danni epatici (GPT) e/o gastrici e/o cardiovascolari (pressione ematica) maggiori rispetto al gruppo trattato con il solo veicolo, al gruppo trattato con veicolo + farmaco, al gruppo trattato con veicolo + L-NAME;

in cui il test 4, che non deve essere soddisfatto dai precursori come definiti di B o di B<sub>1</sub> é il seguente: é una determinazione analitica eseguita aggiungendo aliquote di solu-

zioni metanoliche a concentrazione  $10^{-4}$  M del precursore di B o di B<sub>1</sub> a una soluzione metanolica di DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl - free radical); dopo aver conservato la soluzione a temperatura ambiente e al riparo dalla luce per 30 minuti, si legge l'assorbanza della soluzione in esame e di una soluzione contenente solamente DPPH nella stessa quantità, alla lunghezza d'onda di 517 nm; poi si determina la percentuale di inibizione del precursore di B o di B<sub>1</sub> verso la produzione di radicali indotta da DPPH attraverso la formula:

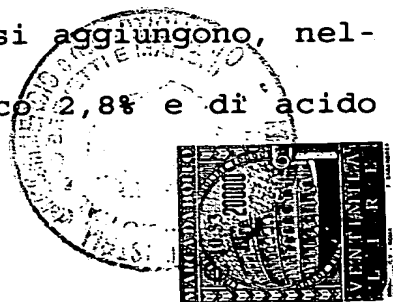
$$(1 - A_e/A_c) \times 100$$

in cui A<sub>e</sub> e A<sub>c</sub> sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e DPPH e quello della soluzione contenente solo DPPH; il criterio di accettazione dei composti secondo questo test è il seguente: il test 4 è soddisfatto dai composti precursori se la percentuale di inibizione come sopra definita è maggiore o uguale del 50%; il precursore di B o di B<sub>1</sub> non deve soddisfare il test 4;

in cui il test 5 è il seguente: è una determinazione ana-

---

litica eseguita aggiungendo aliquote di soluzioni metanoliche a concentrazione  $10^{-4}$  M del precursore di B o di B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>c</sub>-Y-H a una soluzione contenente aliquote di una soluzione 2 mM di desossiribosio in acqua, di 100 mM di tampone fosfato e 1 mM del sale misto Fe<sup>II</sup>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>; dopo aver condizionato la soluzione a 37°C per un'ora si aggiungono, nell'ordine, aliquote di acido tricloroacetico 2,8% e di acido



tiobarbiturico 0,5 M, si scalda a 100°C per 15 minuti e si legge l'assorbanza della soluzione in esame a 532 nm; poi si determina la percentuale di inibizione del precursore di B o di B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>c</sub>-Y-H verso la produzione di radicali attraverso la formula:

$$(1 - A_0/A_c) \times 100$$

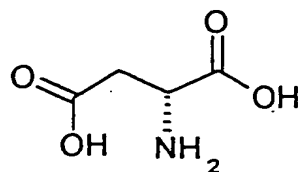
in cui A<sub>0</sub> e A<sub>c</sub> sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e il sale di ferro e quella della soluzione contenente solo il sale di ferro, il composto soddisfa il test 5 quando la percentuale di inibizione come sopra definita del precursore di B o di B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>c</sub>-Y-H è maggiore o uguale al 50%.

Preferibilmente, nei composti dell'invenzione di formula (I) sono esclusi i seguenti farmaci nelle seguenti condizioni: quando  $b_0 = 0$  e  $C = -T_c-Y_0-$ ,  $s = 2$ , il farmaco di formula  $A = R-T_1-$ , come sopra definito, non deve appartenere alle seguenti classi: farmaci per uso nell'incontinenza descritti nella domanda di brevetto WO 98/09948, ACE inibitori descritti nella domanda di brevetto WO 98/21193, derivati prostaglandinici descritti nella domanda di brevetto WO 98/58910.

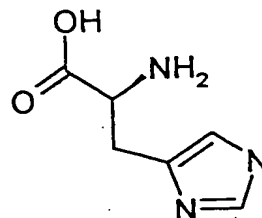
Preferibilmente nei composti dell'invenzione di formula (I) quando  $b_0 = 0$  e  $C = -T_c-Y-$ , e  $s = 2$  sono esclusi i farmaci di formula  $A = R-T_1-$  appartenenti alla classe dei composti antiinfiammatori non steroidei descritti nella domanda di brevetto WO 95/30641.

Preferibilmente il composto precursore d o di B<sub>1</sub> (precursore del radicale X<sub>2</sub> o X<sub>2a</sub> nelle formule (I) e (II) rispettivamente), è scelto tra i seguenti composti:

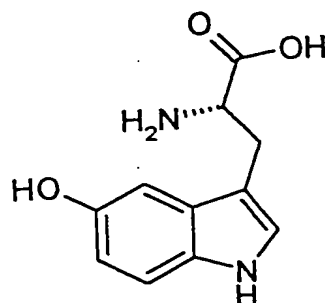
- aminoacidi: acido aspartico (PI), istidina (PII), 5-idrossitriptofano (PIII), acido 4-tiazolidincarbossilico (PIV), acido 2-oxo-4-tiazolidincarbossilico (PV)



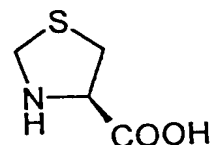
(PI)



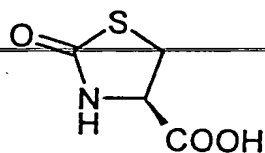
(PII)



(PIII)



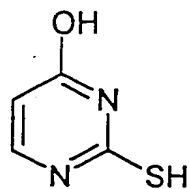
(PIV)



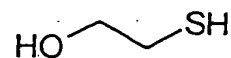
(PV)

- mono e polialcool o tioli: 2-tiouracile (QI), 2-mercaptoetanol (QII), esperidina (QIII), secalciferolo (QIV), 1- $\alpha$ -OH vitamina D<sub>2</sub> (QV), flocalcitriolo (QVI), 22-oxacalcitriolo (QVII), il derivato della vitamina D<sub>3</sub>

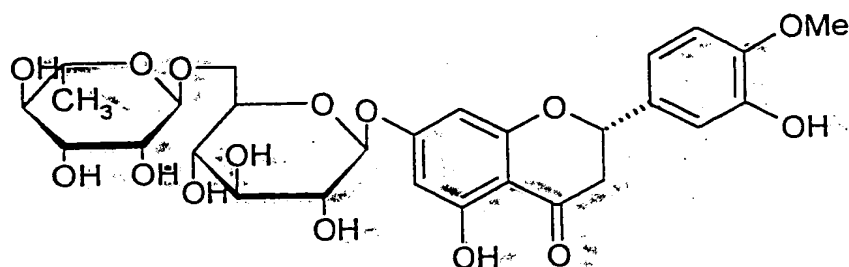
esterificato con il radicale della vitamina A (QVIII), il composto di formula (QIX), 24,28-metilene-1 $\alpha$ -idrossivitaminina D2 (QX) il composto derivato dalla 1 $\alpha$ ,25-diidrossivitaminina D2 (QXI), 2-mercaptoimidazolo (QXII)



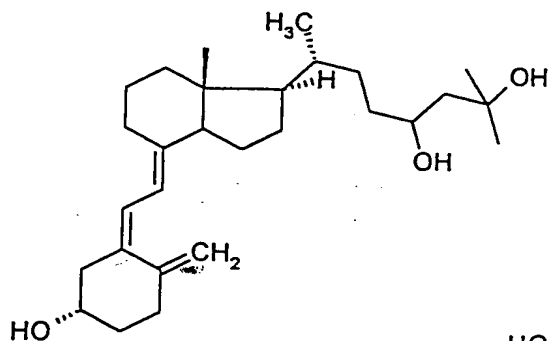
(QI)



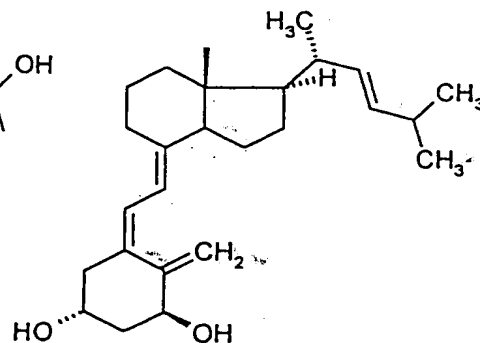
(QII)



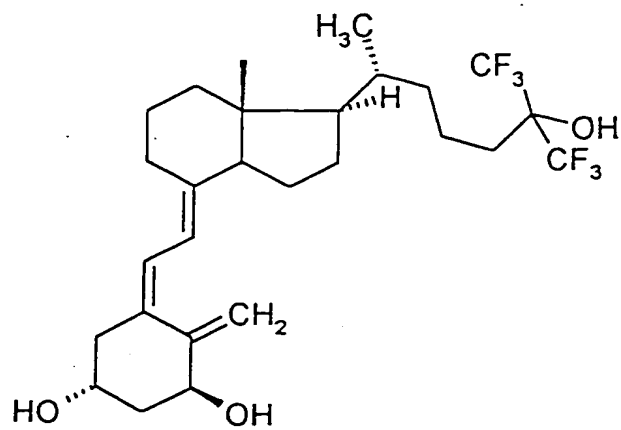
(QIII)



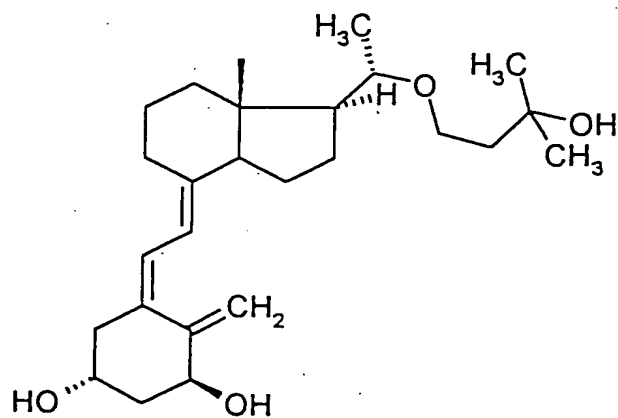
(QIV)



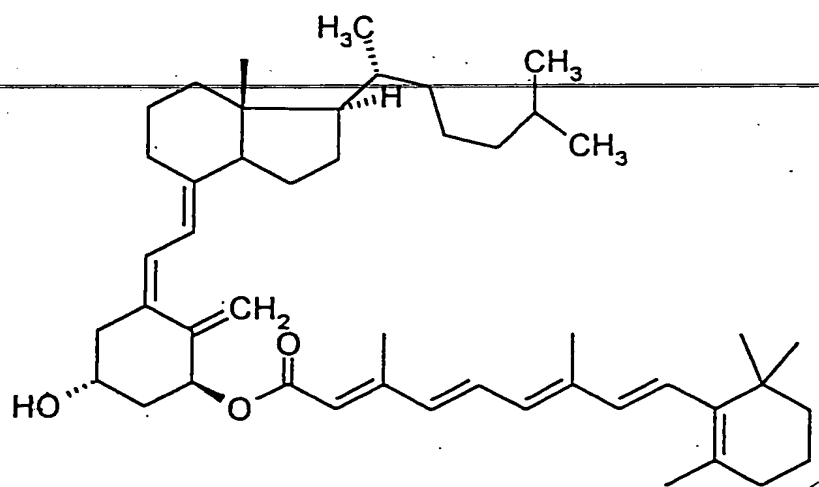
(QV)



(QVI)

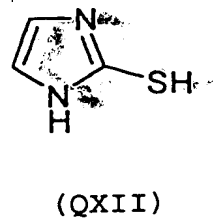
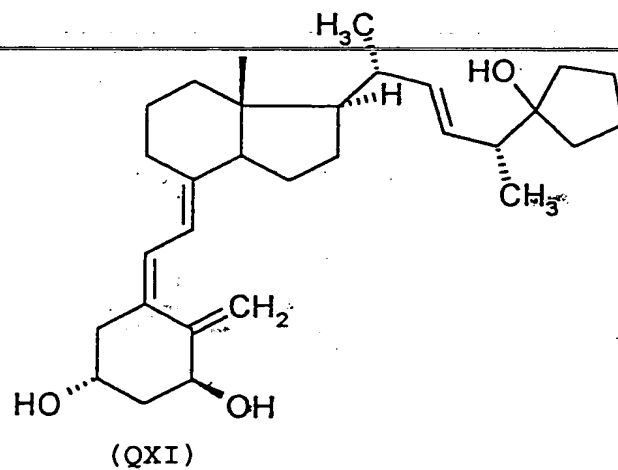
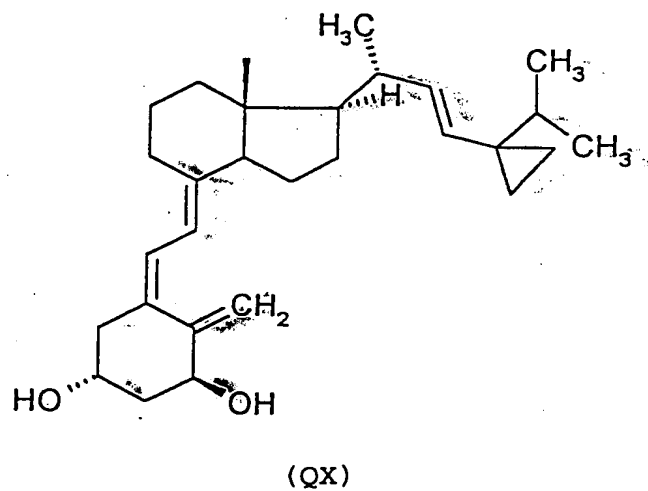
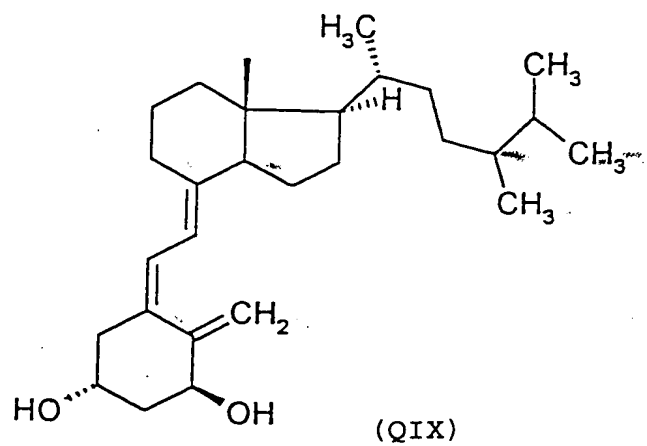


(QVII)



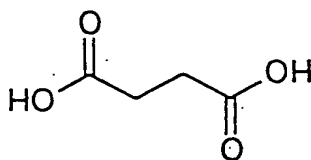
(QVIII)





- acido succinico (RI)





(RI)

I composti precursori del farmaco o di B o di B<sub>1</sub>, o di C = -T<sub>c</sub>-Y-H vengono preparati secondo i metodi noti in letteratura e descritti, ad esempio, nel "The Merck Index", 12<sup>a</sup> ed. (1996), qui integralmente incorporato per riferimento. Quando disponibili, si possono impiegare i corrispondenti isomeri ed isomeri ottici.

Il derivato della vitamina D<sub>3</sub> con acido retinoico (QVIII) viene preparato come descritto in JP 93039261 (rif. C.A. 119 117617); il composto di formula (QIX) secondo EP 562.497; il 24,28-metilene-1 $\alpha$ -idrossivitamina D<sub>2</sub> (QX) secondo EP 578.494; il composto derivato della diidrossivitamina D<sub>2</sub> (QXI) secondo EP 549.318.

I test che vengono effettuati per identificare il farmaco corrispondente al radicale R delle formule (I) e (II) sono in dettaglio i seguenti.

Test 1 (NEM): valutazione del danno gastrointestinale da stress ossidativo indotto dai radicali liberi, prodotti a seguito della somministrazione di N-etilmaleimide (NEM) (H.G. Utley, F. Bernheim, P. Hochstein "Effects of sulphydril reagents on peroxidation in microsomes" Archiv. Biochem. Biophys.

118, 29-32 196

Gli animali (ratti) vengono distribuiti nei seguenti gruppi (n. 10 animali per gruppo):

A) Gruppi controllo:

1° gruppo: trattamento: solo veicolo (sospensione acquosa 1% p/v di carbossimetilcellulosa, dose: 5 ml/Kg se il farmaco viene somministrato per via orale, soluzione fisiologica se la via é parenterale, vale a dire sottocute, intraperitoneo, endovena o intramuscolo),

2° gruppo: trattamento: veicolo + NEM,

B) Gruppi trattati con il farmaco:

gruppo I: trattamento: veicolo + farmaco,

gruppo II: trattamento: veicolo + farmaco + NEM.

Le vie di somministrazione che vengono usate sono quelle note per il farmaco, e possono essere quella orale oppure sottocute, intraperitoneo, endovena o intramuscolo.

La dose di NEM é di 25 mg/Kg in soluzione fisiologica (s.c.) e il farmaco viene somministrato un'ora dopo, in sospensione nel veicolo, in un'unica dose che deve essere quella massima tollerabile nel gruppo di ratti non pretrattati con NEM, vale a dire la dose più alta somministrabile a questi animali alla quale non si abbia tossicità manifesta o che sia riconoscibile sintomatologicamente. Gli animali vengono sacrificati dopo 24 ore e si procede alla valutazione del danno

alla mucosa gastrointestinale.

Il farmaco soddisfa il test 1, cioè può essere utilizzato per preparare i composti di formula generale (I) e (II), quando il gruppo di ratti trattati con NEM e farmaco presenta danni gastrointestinali, o nel gruppo trattato con NEM e farmaco si riscontrano danni gastrointestinali maggiori rispetto al gruppo trattato con il solo veicolo, al gruppo trattato con veicolo + farmaco, al gruppo trattato con veicolo + NEM, anche se non si evidenzia, impiegando specifici tests, una minore attività farmacoterapeutica.

Test 2: parametro di protezione della cellula endoteliale contro lo stress ossidativo indotto da cumene idroperossido (CIP).

Cellule endoteliali umane della vena ombelicale vengono preparate secondo una procedura standard. Vene ombelicali fresche vengono riempite con una soluzione di collagenasi allo 0,1% ed incubate a 37°C per 5 minuti.

Successivamente le vene vengono perfuse con medium M 199 (GIBCO, Grand Island, NY) pH 7,4 addizionato di altre sostanze, come descritto negli esempi. Le cellule sono raccolte dal perfusato mediante centrifugazione e coltivate in fiaschi di coltura T-75, pretrattati con fibronectina umana. Le cellule vengono quindi coltivate nello stesso medium, aggiunto di 10 ng/ml di fattore di crescita ipotalamico di origine bovina. Quando le cellule della coltura di cellule primarie (diretta-



mente prelevato dal vivo) formano uno strato singolo di cellule tra di loro confluenti (circa 8.000.000 cellule/fiasco), la coltura viene interrotta, e gli strati lavati e tripsinizzati. Le sospensioni cellulari vengono trasferite in ciascun pozzetto di una piastra di coltura a 24 pozzetti, la metà dei quali addizionati dello stesso medium contenente il farmaco a una concentrazione  $10^{-4}M$ , e coltivate in termostato a  $37^{\circ}C$  a umidità costante. Soltanto le cellule provenienti da queste prime sottocolture vengono usate per gli esperimenti con cumene idroperossido (CIP). Le cellule vengono identificate come cellule endoteliali mediante esame morfologico e mediante la specifica reazione immunologica verso il fattore VIII; le colture non hanno evidenziato contaminazioni da miociti o fibroblasti.

Prima di iniziare il test il medium di coltura cellulare viene rimosso e gli strati cellulari vengono cautamente lavati con soluzione fisiologica alla temperatura di  $37^{\circ}C$ . Tutti i pozzetti vengono quindi incubati per un'ora con CIP a concentrazione 5 mM. La valutazione del danno cellulare (apoptosi) viene effettuata misurando la variazione percentuale della frammentazione del DNA rispetto al gruppo controllo (trattato con solo CIP), valutando la variazione di fluorescenza alla lunghezza d'onda di 405-450 nm. Vengono eseguite 5 repliche per ogni campione:

Il farmaco soddisfa il test se non induce un'inibizione della apoptosi statisticamente significativa rispetto ai con-

trolli. Il farmaco soddisfa il test, cioè può essere utilizzato per preparare i composti di formula generale (I) e (II), se non si ottiene una inibizione della apoptosi (danno cellulare) indotta da CIP statisticamente significativa con  $p < 0,01$  rispetto al gruppo trattato con CIP.

Test 3: valutazione della disfunzione endoteliale indotta da somministrazione di L-NAME (N<sup>w</sup>-nitro-L-arginina-metil estere) J. Clin. Investigation 90, 278-281, 1992.

La disfunzione endoteliale viene valutata determinando il danno alla mucosa gastrointestinale, il danno epatico e l'ipertensione sanguigna.

Gli animali (ratti) sono divisi in due gruppi, di cui uno riceve per 4 settimane L-NAME disciolto alla concentrazione di 400 mg/litro nell'acqua da bere. Vengono costituiti i seguenti gruppi (n. 10 animali per gruppo):

A) Gruppi controllo:

1° gruppo: solo veicolo (sospensione acquosa 1% p/v di carbossimetilcellulosa, dose: 5 ml/Kg se il farmaco viene somministrato per via orale, soluzione fisiologica se la via é parenterale),

2° gruppo: solo veicolo + L-NAME,

B) Gruppi somministrati con ciascun farmaco:

3° gruppo: veicolo + farmaco,

4° gruppo: veicolo + farmaco + L-NAME.

Le vie di somministrazione che vengono usate sono quelle note per il farmaco, e possono essere la via orale oppure sottocute, intraperitoneo, endovena o intramuscolo.

Il farmaco viene somministrato alla dose che risulti quella massima tollerabile nel gruppo di ratti non pretrattati con L-NAME, vale a dire la dose più alta somministrabile agli animali di questo gruppo, alla quale non si abbia tossicità manifesta o che sia riconoscibile sintomatologicamente. Il farmaco viene somministrato una volta al giorno per 4 settimane.

Al termine delle quattro settimane l'accesso all'acqua viene impedito e dopo 24 ore gli animali vengono sacrificati.

Un'ora prima del sacrificio si determina la pressione ematica. Il danno alla mucosa gastrica viene valutato come indicato nel test 1 (esempio F1), quello all'endotelio vascolare mediante gli effetti cardiovascolari indotti (aumento della pressione sanguigna). Il danno epatico viene determinato mediante valutazione della transaminasi glutammico-piruvica (aumento di GPT) dopo il sacrificio. Il farmaco soddisfa il test 3, cioè può essere utilizzato per preparare i composti di formula generale (I) e (II), quando nel gruppo di ratti trattati con L-NAME e il farmaco si riscontrano danni epatici (GPT) e/o gastrici e/o cardiovascolari (pressione ematica) maggiori rispetto al gruppo trattato con il solo veicolo, al gruppo trattato con veicolo + farmaco, al gruppo trattato con

veicolo + L-NAME, anche se l'attività farmacoterapeutica, valutata attraverso test specifici, non risulta significativamente ridotta.

Nelle condizioni previste nei test in vivo 1 e 3 qui sopra descritti l'indice terapeutico del farmaco é inferiore, in quanto le dosi efficaci non sono più tollerate.

E' stato trovato dalla Richiedente che i precursori di B o di B<sub>1</sub> non soddisfano al test 4 qui di seguito riportato mentre soddisfano, come detto, al test 5.

Il test 4 é un saggio colorimetrico in cui i precursori come definiti di B o di B<sub>1</sub> (precursore del radicale X<sub>2</sub> o X<sub>2a</sub> delle formule (I) e (II) rispettivamente), mostrano una inibizione della produzione di radicali da parte di DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) (M.S. Nenseter et Al., Atheroscler. Thromb. 15, 1338-1344, 1995) inferiore al 50%. Vengono preparate soluzioni 100 µM in metanolo delle sostanze in esame, ed una aliquota di esse viene aggiunta a una soluzione 0,1 M metanolica di DPPH. Dopo aver conservato le soluzioni a temperatura ambiente e al riparo dalla luce per 30 minuti si legge l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 517 nm. Si determina la diminuzione di assorbanza rispetto a quella della soluzione che contiene la stessa concentrazione di DPPH. La capacità del composto in esame di inibire la produzione di radicali viene espressa attraverso la seguente formula:

$$(1 - A_0/A_c) \times 100$$



in cui  $A_s$  e  $A$  sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame assieme a DPPH e della soluzione contenente solo DPPH.

Il test 5 é un saggio colorimetrico in cui aliquote da 0,1 ml di soluzioni in metanolo dei prodotti in esame a concentrazione finale  $10^{-4}$  M vengono aggiunte a una soluzione formata da 0,2 ml di 2 mM desossiribosio, 0,4 ml di tampone fosfato pH 7,4 100 mM e 0,1 ml di 1 mM  $Fe^{II}(NH_4)_2(SO_4)_2$  in 2mM HCl. Le provette contenenti le miscele di reazione vengono quindi conservate a 37°C per un'ora. Vengono quindi aggiunti in ogni provetta, nell'ordine 0,5 ml di una soluzione 2,8% in acqua di acido tricloroacetico e 0,5 ml di una soluzione acquosa 0,1 M di acido tiobarbiturico. Viene costituito un bianco in cui si aggiunge la stessa aliquota di 0,1 ml di metanolo senza i composti in esame. Si chiudono le provette e si scalda in bagno di olio a 100°C per 15 minuti. Si sviluppa una colorazione rosa la cui intensità é proporzionale alla degradazione ossidativa del desossiribosio. Si raffredda a temperatura ambiente e si determina l'assorbanza delle soluzioni a 532 nm.

La percentuale di inibizione del precursore di B o di B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>c</sub>-Y-H verso la produzione di radicali viene calcolata attraverso la formula:

$$(1 - A_s/A_c) \times 100\%$$

in cui  $A_s$  e  $A_c$  sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e il sale di



ferro e quella de soluzione contenente solo il sale di ferro, il composto soddisfa il test 5 quando la percentuale di inibizione di produzione di radicali come sopra definita da parte del precursore di B o di B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>c</sub>-Y-H é maggiore o uguale al 50%.

Inaspettatamente prodotti dell'invenzione delle formule (I) e (II) possiedono indice terapeutico migliorato, in condizioni di stress ossidativo, rispetto ai farmaci precursori.

A titolo illustrativo i test sopra indicati vengono riferiti ai seguenti composti (si vedano gli esempi):

**Test 1: farmaco precursore: indometacina**

- Dose massima somministrabile: 7,5 mg/Kg p.o., somministrando una dose maggiore si manifesta una tossicità caratterizzata da enteropatia, tremore, sedazione fino a morte (entro 24 ore).
- Il gruppo di ratti trattato con NEM presenta danni gastrointestinali quando gli viene somministrata la dose del farmaco sopra indicata.

---

L' indometacina nei gruppi trattati con NEM provoca danni gastrointestinali e pertanto soddisfa il test 1. L'indometacina pertanto si può utilizzare come farmaco per preparare i composti (I) e (II) della presente invenzione.

**Test 2: farmaci precursori: indometacina, paracetamolo e mesalamina**

Indometacina e paracetamolo soddisfano il test 2 in quan-

to l'inibizione dell'apoptosi indotta da CIP non é diversa rispetto a quella dei controlli. Pertanto si possono utilizzare come farmaci per preparare i composti (I) e (II) della presente invenzione.

Invece utilizzando come farmaco la mesalamina, non soddisfa il test 2 in quanto inibisce l'apoptosi indotta da CIP. Pertanto la mesalamina in base al test 2 non si potrebbe utilizzare come farmaco per preparare i composti (I) e (II) della presente invenzione. E' stato trovato che comunque la mesalamina sottoposta al test 1 provoca danni gastrointestinali. Pertanto la mesalamina si può utilizzare come farmaco per preparare i composti (I) e (II) della presente invenzione.

**Test 3 (L-NAME) farmaci: paracetamolo, simvastatina e omeprazolo**

Paracetamolo e simvastatina soddisfano il test 3 in quanto provocano danni gastrici ed epatici in misura maggiore di quello indotto sia da L-NAME che dal farmaco singolarmente. Pertanto si possono utilizzare come farmaci per preparare i composti (I) e (II) della presente invenzione.

Invece é stato trovato che omeprazolo non provoca danni gastrici ed epatici, nè modifica la pressione ematica. In base al test 3 non si potrebbe utilizzare come farmaco per preparare i composti (I) e (II) della presente invenzione.

---

---

Test 4 (test per il precursore di B e B<sub>1</sub>): composto precursore: N-acetilcisteina e acido 4-tiazolidincarbossilico

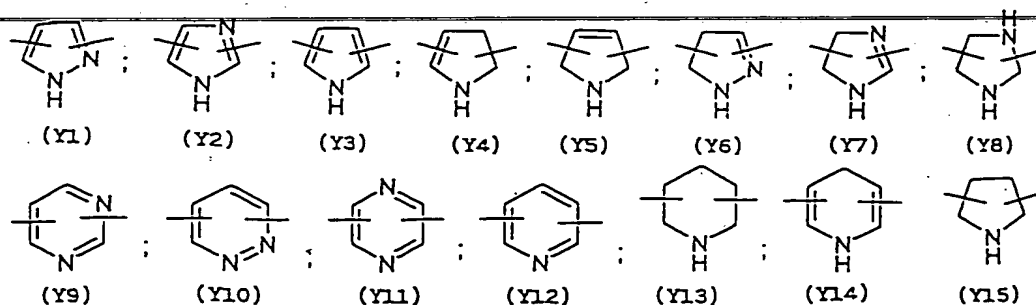
N-acetilcisteina é in grado di inibire del 100% la produzione di radicali indotta da DPPH, quindi soddisfa il test 4. Quindi non può essere utilizzata nella presente invenzione come precursore di B o di B<sub>1</sub>.

L'acido 4-tiazolidincarbossilico non é in grado di inibire la produzione di radicali indotta da DPPH, non soddisfa il test 4 e quindi può essere utilizzato come precursore di B o di B<sub>1</sub> se soddisfa il test 5.

Test 5 (test per il precursore di B, B<sub>1</sub> e C= -T<sub>c</sub>-Y-H): composto precursore: acido 4-tiazolidincarbossilico

La Tabella relativa a questo test mostra che l'acido 4-tiazolidin carbossilico soddisfa il test 5 in quanto l'inibizione é del 100%. Pertanto il composto si può utilizzare come precursore di B, o di B<sub>1</sub>.

Y<sub>3</sub> in formula (III) é scelto preferibilmente fra i seguenti:



Il più preferito di Y<sup>3</sup> é Y<sub>12</sub> (piridile) sostituito in posizione 2 e 6. I legami possono trovarsi anche in posizione



non simmetric ad es. Y12 (piridile) p essere sostituito anche in posizione 2 e 3; Y1 (pirazolo) può essere 3,5-disostituito.

I composti secondo la presente invenzione di formula (I) e (II) possono essere trasformati nei corrispondenti sali. Ad esempio un modo per formare i sali è il seguente: qualora sia presente nella molecola un atomo di azoto sufficientemente basico da poter essere salificato, per reazione in solvente organico come ad es. acetonitrile, tetraidrofurano, si fa reagire con una quantità equimolecolare del corrispondente acido, organico o inorganico.

Preferibilmente nella formula del composto dell'invenzione è presente X o Y di formula (III).

Esempi di acidi organici sono: acido ossalico, tartarico, maleico, succinico, citrico.

Esempi di acidi inorganici sono: acido nitrico, cloridrico, solforico, fosforico.

I derivati secondo l'invenzione possono essere usati nelle indicazioni terapeutiche del farmaco precursore, consentendo di ottenere i vantaggi qui di seguito esemplificati per alcuni gruppi di questi farmaci:

- Antiinfiammatori NSAIDs: i composti dell'invenzione risultano ottimamente tollerati ed efficaci, anche quando l'organismo è debilitato e si trova in condizioni di stress ossidativo.

- Bloccanti adrenergici, di tipo  $\alpha$ - o  $\beta$ -bloccante: lo spettro di azione dei composti di formula (I) risulta più ampio di quello dei farmaci di partenza: ad una azione diretta sulla muscolatura liscia si associa l'inibizione dei segnali nervosi beta-adrenergici che governano la contrazione dei vasi ematici. Gli effetti collaterali (dispnea, broncocostrizione) a carico dell'apparato respiratorio risultano diminuiti.
  - Antitrombotici: l'attività antipiastrinica risulta potenziata e nel caso dei derivati dell'aspirina la tollerabilità gastrica migliorata.
  - Broncodilatatori: risultano diminuiti gli effetti collaterali a carico dell'apparato cardiovascolare (tachicardia, ipertensione).
  - Espettoranti e mucolitici: la tollerabilità gastrointestinale risulta migliorata.
  - Difosfonati: la tossicità a carico del tratto gastrointestinale risulta drasticamente diminuita.
- 
- Inibitori della fosfodiesterasi (PDE) (broncodilatatori): l'efficacia terapeutica risulta migliorata a parità di dosaggio; é pertanto possibile, usando i composti dell'invenzione, somministrare una dose inferiore del farmaco e ridurre gli effetti collaterali.
  - Anti leucotrienici: migliore efficacia.
  - ACE inibitori: migliore efficacia terapeutica e minori

effetti collaterali (dispnea, tosse) a carico dell'apparato respiratorio.

- Antidiabetici (insulino sensibilizzanti e ipoglicemizzanti), antibiotici, antivirali, antitumorali, anticolitici, farmaci per la terapia della demenza: migliore efficacia e/o tollerabilità.

I farmaci che si possono utilizzare come precursori nella formula generale dei composti dell'invenzione sono tutti quelli che soddisfano ad almeno uno dei test 1, 2, 3 sopra indicati. Esempi di farmaci precursori che si possono utilizzare sono i seguenti.

Per gli antiinfiammatori/analgesici, si possono citare ad es. i seguenti:

antiinfiammatori: aceclofenac, acemetacin, acido acetil-salilico, alclofenac, alminoprofen, amfenac, bendazac, bermoprofen,  $\alpha$ -bisabolol, bromfenac, bromosaligenin, acido bucloxico, butibufen, carprofen, cinmetacin, clidanac, clopirac, diclofenac sodico, diflunisal, ditazol, acido enfenamico, etodolac, etofenamato, felbinac, fenbufen, acido fenclozico, fendosal, fenoprofen, fentiazac, fepradinol, acido flufenamico, flunixin, flunoxaprofen, flurbiprofen, glucametacin, glicol salicilato, ibuprofen, ibuproxam, indometacin, indoprofen, isofezolac, isoxepac, isoxicam, ketoprofen, ketorolac, lornoxicam, loxoprofen, acido meclofenamico, acido mefenamico, meloxicam, mesalamina, acido metiazinico, mofezolac, naproxen,

acido niflumico, oxaceprol, oxaprozin, oxifenbutazone, parsal-  
 mide, perisoxal, fenil acetilsalicilato, pirazolac, piroxicam,  
 pirprofen, pranoprofen, acido protizinico, salacetamide, acido  
 salicilamide O-acetico, acido salicilsolforico, salsalato,  
 sulindac, suprofen, suxibuzone, tenoxicam, acido tiaprofenico,  
 tiaramide, tinoridina, acido tolfenamico, tolmetin, tropesin,  
 xenbucin, ximoprofen, zaltoprofen, zomepirac, tomoxiprololo;

analgesici: acetaminophen, acetaminosalol, aminochlorthe-  
 noxazin, acido acetilsalicilico 2-amino-4-picoline, acido ace-  
 tilsalicilsalicilico, anileridina, benoxaprofen benzilmorfina,  
 acido 5-bromosalicilico acetato, bucetin, buprenorfina, butor-  
 fanolo, capsaicina, cinchophen, ciramadol, clometacin, cloni-  
 xin, codeina, desomorphine, dezocine, diidrocodeina, diidro-  
 morfina, dimepheptanol, dipyroceryl, eptazocine, ethoxazene,  
 etilmorfina, eugenolo, floctafenina, fosfosal, glafenina,  
 hydrocodone, hydromorphone, hydroxypethidine, ibufenac,  
 p-lactophenetide, levorphanol, meptazinol, metazocine, meto-  
 pon, morfina, nalbuphine, nicomorfina, norlevorphanol, normor-  
 fina, oxycodone, oxymorfone, pentazocina, fenazocina, feno-  
 coll, fenoperidine, fenilbutazone, fenilsalicilato, fenilrami-  
 dol, salicin, salicilamide, tiorphan, tramadol, diacereina,  
 actarit.

Per i farmaci dell'apparato respiratorio (broncodilatato-  
 ri, espettoranti/mucolitici, antiasmatici/antiallergici anti-  
 istaminici), si possono menzionare i seguenti:



broncodilatatori: acefillina, albuterolo, bambuterolo, bamifillina, bevonium methyl sulfate, bitolterolo, carbuterolo, clenbuterolo, clorprenalina, dioxethedrine, difillina, efedrina, epinefrina, eprozinol, etafredine, ethylnorepinephrine, etofillina, fenoterolo, flutoprium bromide, hexoprenaline, ipratropium bromide, isoetharine, isoprotenerolo, mabuterolo, metaproterenolo, oxitropium bromide, pirbuterol, procaterolo, protokylol, proxyphylline, reproterolo, rimiterolo, salmeterolo, soterenolo, terbutalina, acido l-teobromoacetico, tiotropium bromide, tretoquinolo, tulobuterolo, zaprinast;

espettoranti/mucolitici: ambroxolo, bromexina, domiodol, erdosteine, guaiacol, guaifenesina, glicerolo iodurato, letosteine, mesna, sobrenolo, stepronin, terpin, tiopronin;

antiasmatici/antiallergici antiistaminici: acrivastine, alloclamide, amlexanox, cetirizine, clobenzepam, cromoglicato, cromolyn, epinastine, fexofenadine, formoterol, istamina, hydroxyzine, levocabastina, lodoxamide, mabuterolo, metron s, montelukast, nedocromil, repirinast, seratrodist, suplatastosilato, terfenadine, tiaramide, urushiol, bromexina.

Per i farmaci cardiovascolari (ACE-inibitori, beta bloccanti, antitrombotici e vasodilatatori, antidiabetici e ipoglicemici), si possono menzionare i seguenti:

ACE-inibitori: alacepril, benazepril, captopril, ceronapril, cilazapril, delapril, enalapril, enalaprilat, fosino-



pril, imidapril, enalapril, losartan, moxalactam, naftopidil, perindopril, quinapril, ramipril, spirapril, temocapril, trandolapril, urapidil;

beta bloccanti: acebutololo, alprenololo, amosulalolo, arotinololo, atenololo, betaxololo, bevantololo, bucumololo, bufetololo, bufuralolo, bunitrololo, bupranololo, butofilolo, carazololo, carteololo, carvedilolo, celiprololo, cetamololo, dilevalolo, epanololo, esmololo, indenololo, labetalolo, mepindololo, metipranololo, metoprololo, moprololo, nadololo, nadoxololo, nebivololo, nifenalolo, nipridalolo, oxprenololo, penbutololo, pindololo, practololo, pronetalolo, propranololo, sotalolo, sulfinalolo, talinololo, tertatololo, tilisololo, timololo, toliprololo, xibenololo;

antitrombotici e vasodilatatori: acetorphan, acido acetilsalicilico, argatroban, bamethan, benfurodil emisuccinato, benziodarone, betahistine, brovincamine, bufeniode, citicolina, clobenfurol, clopidogrel, cyclandelate, dalteparin, dipiradamolo, droprenilamine, enoxaparin, fendiline, ifenprodil, iloprost, indobufen, isbogrel, isoxsuprine, lamifiban, nadroparin, nicotinoil alcol, nylidrin, ozagrel, perhexiline, prenilamina, papaverolina, reviparin sale sodico, ridogrel, suloctidil, tinofedrine, tinzaparin, triflusal, xanthinol niacinate;

antidiabetici: acarbose, carbutamide, glibornuride glybutiazol(e), miglitol, repaglinide, troglitazone, 1-butyl-3-

metanyl-urea, telrestat, nicotinamide.

Per i farmaci antitumorali si possono menzionare i seguenti: ancitabina, anthramicina, azacitidina, azaserina, 6-azauridina, bicalutamide, carubicina, carzinophilin, chlorambucil, chlorozotocin, citarabina, daunorubicina, defosfamide, demecolcina, denopterina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, docetaxel, doxifluridina, doxorubicina, droloxifene, edatrexato, eflornithine, enocitabine, epirubicina, epitiostanol, etanidazole, etoposide, fenretinide, fludarabine, fluorouracile, gemcitabine, hexestrol, idarubicina, lonidamine, mannomustine, melphalan, menogaril, 6-mercaptopurina, methotrexate, mitobronitol, mitolactol, mitomycins, mitoxantrene, mepidamol, mycophenolic acid, ninopterin, nogalamycin, paclitaxel, pentostatin, pirarubicin, piritrexim, plicamycin, acido podofillico, porfimer sodium, porfiromycin, propagermanium, puromycin, ranimustine, acido retinoico, roquinimex, streptonigrin, streptozocin, teniposide, acido tenuazonico, thiamiprine, tioguanina, tomudex, topotecan, trimetrexate, tubercidin, ubenimex, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, zorubicina.

Per i farmaci antiulcera si possono menzionare i seguenti: acido  $\epsilon$ -acetamidocaproico, arbaprostil, cetraxate, cimetidina, ecabet, enprostil, esaprazole, irsogladine, misoprostol, omeprazole, ornoprostil, pantoprazole, plaunetol, rioprostil, rosaprostol, rotraxate, sofalcone, trimoprostil.

Tra i farmaci antiiperlipidemici (statine) si possono

menzionare i seguenti: atorvastatina, cilastatina, dermostatina, fluvastatina, lovastatina, mevastatina, nystatina, pentostatina, pepstatina, privastatina sale sodico, simvastatina.

Tra i farmaci antibiotici/antivirali si possono menzionare i seguenti:

antibiotici: amdinocillina, amoxicillina, ampicillina, apalcillina, apicyclina, aspoxicillin, azidamfenicol, azidocillina, azlocillina, aztreonam, benzoylpas, acido benzil penicillinico, biapenem, bicozamycin, capreomycina, carbenicillina, carindacillina, carumonam, cefaclor, cefadroxil, cefamandole, cefatrizina, cefazedone, cefazolina, cefbuperazone, cefclidin, cefdinir, cefditoren, cefepime, cefetamet, cefixime, cefmenoxime, cefmetazole, cefminox, cefodizime, cefonicid, cefoperazone, ceforanide, cefotaxime, cefotetan, cefotiam, cefoxitin, cefozopran, cefpimizole, cefpiramide, cefpirome, cefprozil, cefroxadine, cefsulodin, ceftazidime, cefteram, ceftezole, ceftibuten, ceftiofur, ceftizoxime, ceftriaxone, cefuroxime, cefuzonam, cephacetrile sodium, cephalixin, cephaloglycin, cephaloridina, cephalosporin C, cephalothin, cephalpirin sodium, cephradine, chloramphenicol, chlortetracyclina, cinoxacina, clavulanic acid, clometocillina, cloxacillina, cyclacillina, cycloserina, demeclocyclina, dicloxacillina, epicillina, fenbecillina, flomoxef, floxacillina, hetacillina, imipenem, lenampicillina, loracarbef, lymecycline, mafenide, meclocyclina, meropenem, metampicillina, methacyclina, methi-



cillina sale sodico, mezlocillina, minocyclina, moxalactam, mupirocin, myxin, negamycina, novobiocina, oxacillina, pamipenem, penicillina G sale di potassio, penicillina N, penicillina O, penicillina V, phenethicillina sale di potassio, pipacyclina, piperacillina, pirlimycin, porfiromycina, propicillina, quinacillina, ritipenem, rolitetracycline, sancyclina, sedecamycina, spectinomycina, sulbactam, sulbenicillina, temocillina, tetracyclina, ticarcillina, tigemonam, tubercidina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, enviomicina, eritromicina, josamicina, midecamicina, miocamicina, oleandomicina, rifabutina, rifamide, rifamicina, rifaximina, rokitamicina, spiramicina, troleandromicina, viomicina, virginiamicina;

antivirali: aciclovir, amantadina, ~~cidofovir~~, cytarabina, didanosina, dideoxyadenosina, edoxudina, famciclovir, floxuridine, ganciclovir, idoxuridina, indanavir, kethoxal, lamivudine, MADU, penciclovir, podophyllotoxina, ribavirina, rimantadina, saquinavir, sorivudina, stavudina, trifluridina, valacyclovir, vidarabina, acido xenazoico, zalcitabina, zidovudina.

---

na.

Tra gli inibitori del riassorbimento osseo (difosfonati) si possono citare i seguenti: acido alendronico, acido budedronico, acido etidronico, acido ~~oxidronico~~, acido ~~pamidronico~~, acido risedronico.

Tra i farmaci antidemenza si possono citare i seguenti: amiridina, lazabemide, mofegilina, salbeluzolo, oxiracetam,

ipidacrina, nebracetam, tacrina, velnacrina.

Le sostanze preferite sono le seguenti:

tra gli antiinfiammatori: acido acetilsalicilico, carprofen, diclofenac sodico, diflunisal, etodolac, acido flufenamico, flunixin, flurbiprofen, ibuprofen, indometacin, indoprofen, ketoprofen, ketorolac, lornoxicam, loxoprofen, acido meclofenamico, acido mefenamico, meloxicam, mesalamina, naproxen, acido niflumico, piroxicam, salsalato, sulindac, suprofen, tenoxicam, acido tiaprofenico, acido tolfenamico, tolmetin, zomepirac, tomoxiprololo;

tra gli analgesici: acetaminophen, acido acetilsalicilico, benoxaprofen, buprenorfina, butorfanolo, capsaicina, diacereina, diidrocodaina, etilmorfina, eugenolo, fenilbutazone, meptazinol, morfina, nalbuphine, pentazocina, tiorphan, tramadol, actarit.

Tra i farmaci dell'apparato respiratorio (broncodilatatori, espettoranti/mucolitici, antiasmatici/antiallergici antiistaminici):

---

broncodilatatori: albuterolo, carbuterolo, clenbuterolo, difillina, etofillina, fenoterolo, ipratropium bromide, metaproterenolo, pirbuterol, salmeterolo, terbutalina, tiotropium bromide, zaprinast;

espettoranti/mucolitici: ambroxolo, bromexina, guaiacol, sobrerolo;

antiasmatici/antiallergici antiistaminici: cetirizine,

cromoglicato, istamina, levocabastina, lodoxamide, montelukast, terfenadine, bromexina.

Tra i farmaci cardiovascolari:

ACE-inibitori: captopril, enalapril, lisinopril, losartan, ramipril;

beta bloccanti: alprenololo, atenololo, bupranololo, labetalolo, metipranololo, metoprololo, pindololo, propranololo, timololo;

antitrombotici e vasodilatatori: acido acetilsalicilico, acetorphan, argatroban, clopidogrel, dalteparin, dipiridamolo, enoxaparin, iloprost, ozagrel, trifusal;

antidiabetici: tolrestat, nicotinamide.

Tra i farmaci antitumorali: antramicina, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, fluorouracile, methotrexate, vinblastina.

Tra i farmaci antiulcera: cimetidina, omeprazole, pantoprazole.

Tra i farmaci antiiperlipidemici: lovastatina, pravastatina sale sodico, simvastatina.

Tra i farmaci antibiotici/antivirali:

antibiotici: amoxicillina, ampicillina, aztreonam, biapenem, carbenecillin, cefaclor, cefadroxil, cefamandole, cefatrizina, cefoxitin, clavulanic acid, dicloxacillina, imipenem, meclocycline, methacyclina, moxalactam, panipenem, sulbactam, azitromicina, eritromicina, josamicina, miocamicina, rifabuti-

na, rifamide, rifamicina;

antivirali: aciclovir, famciclovir, ganciclovir, penciclovir, ribavirin, vidarabine, zidovudine.

Tra gli inibitori del riassorbimento osseo: acido alendronico, acido etidronico, acido pamidronico.

Tra i farmaci antidemenza: oxiracetam, tacrina, velnacrina.

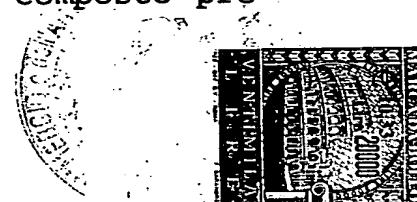
Le sostanze sopra indicate, precursori di A, vengono preparate secondo i metodi noti in letteratura. Si veda ad esempio nel "The Merck Index", 12<sup>a</sup> ed. (1996), qui integralmente incorporato per riferimento. Quando disponibili, si possono impiegare i corrispondenti isomeri, compresi gli isomeri ottici.

Il tomoxiprolo viene ottenuto secondo il metodo descritto in EP 12.866.

I composti di formula (I) o (II) vengono preparati con metodi di sintesi qui sotto indicati.

La scelta delle reazioni per ciascun metodo dipende dai gruppi reattivi presenti nella molecola del farmaco precursore, nel composto precursore di B o B<sub>1</sub>, il quale può essere, come sopra si è indicato, bivalente oppure monovalente, e nel composto precursore di C.

Le reazioni vengono effettuate con metodi ben noti nell'arte, che consentono di ottenere i legami tra farmaco precursore, il composto precursore di B o B<sub>1</sub> e il composto pre-



cursore di C come sopra definiti.

Qualora la funzione reattiva del farmaco precursore (ad es. -COOH, -OH) sia impegnata in un legame di tipo covalente, ad es. del tipo estere, ammide, etere, detta funzione può venire ripristinata con i metodi ben noti nell'arte.

Si riportano qui di seguito alcuni schemi di sintesi per ottenere i composti dell'invenzione.

A) Sintesi dei composti di formula (I).

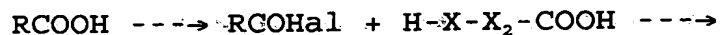
1. Sintesi del composto ottenuto per reazione tra il farmaco precursore ed il composto precursore di B.

1a. Se il farmaco ha formula generale R-COOH e il gruppo funzionale del composto precursore di B che si lega alla funzione carbossilica del farmaco ha formula XZ, essendo X come sopra definito e Z = H, le reazioni che si effettuano dipendono dalla natura del secondo gruppo reattivo presente nel composto precursore di B.

1a.1 Se il secondo gruppo reattivo presente nel composto precursore di B è un gruppo carbossilico, lo schema generale

---

della sintesi prevede la formazione iniziale dell'alogenuro dell'acido R-COHal (Hal = Cl, Br) e la successiva reazione con il gruppo HX del composto precursore di B:



X<sub>2</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> essendo come sopra definiti.

Se nei due composti in reazione sono presenti altri grup-



pi funzionali COOH e/o HX, essi devono venire protetti prima della reazione secondo i metodi noti nell'arte; ad esempio come descritto nel volume di Th. W. Greene: "Protective groups in organic synthesis", Harward University Press, 1980.

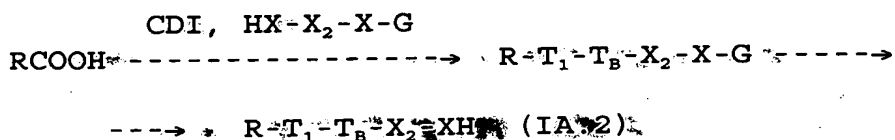
L'acilalogenuro RCOHal viene preparato secondo i metodi noti nell'arte, ad es. mediante tionil o ossalil cloruro, alogenuri di  $P^{III}$  o  $P^V$  in solventi inerti nelle condizioni di reazione, come ad es. toluene, cloroformio, DMF, ecc. In particolare, se il gruppo HX del composto precursore di B é  $NH_2$ , oppure OH o SH, il farmaco precursore di formula R-COOH viene prima convertito nel corrispondente acil alogenuro RCOHal, come sopra indicato, e poi fatto reagire con il gruppo HX del composto precursore di B in presenza di una base organica, come trietilammina, piridina, ecc., impiegando un solvente inerte nelle condizioni di reazione come toluene, tetraidrofurano, ecc., a una temperatura compresa tra  $0^\circ C$  e  $25^\circ C$ .

---

In alternativa alla sintesi precedente, il farmaco precursore di formula R-COOH può essere trattato con un agente attivante il carbossile scelto tra N,N'-carbonil-diimidazolo (CDI), N-idrossibenzotriazolo e dicicloesilcarbodiimide in solvente come ad es. DMF, THF, cloroformio, ecc., a una temperatura compresa tra  $-5^\circ C$  e  $50^\circ C$  e il composto ottenuto fatto reagire in situ con la funzio-

ne reattivi del composto precursore B per ottenere il composto di formula (IA.1).

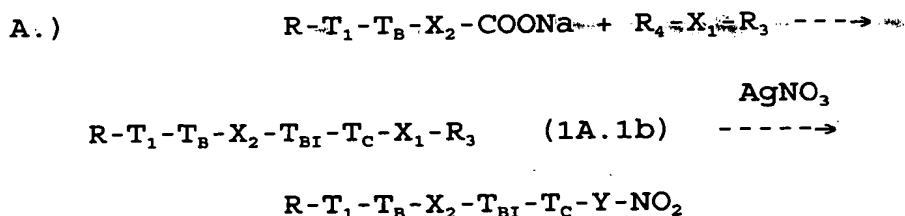
1a.2 Se il composto precursore di B contiene due gruppi funzionali XZ, uguali o diversi tra loro, essendo X come sopra definito e Z = H, il farmaco precursore avente formula R-COOH viene prima trattato con un agente attivante il carbossile, come sopra descritto in 1a.1, e poi con il composto precursore di B, dopo aver protetto uno dei due gruppi reattivi HX, ad es. per reazione con acetile oppure ter-butilossicarbonile, ripristinando la funzione iniziale alla fine della sintesi. Lo schema è il seguente:



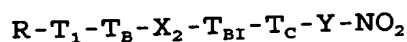
in cui X, T<sub>1</sub>, T<sub>B</sub>, X<sub>2</sub> sono come sopra definiti e G è un gruppo protettivo della funzione HX.

## 2. Sintesi del nitrossiderivato.

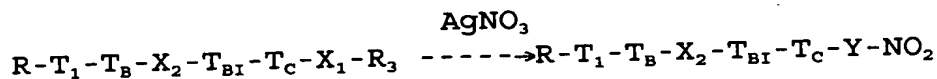
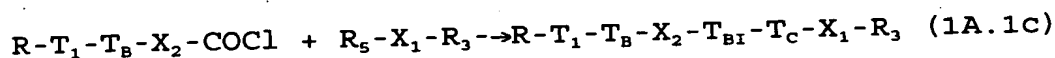
2a.1 Se il composto che si ottiene alla fine del precedente passaggio 1a. ha formula (IA.1), si può convertire l'acido nel corrispondente sale sodico e seguire poi metodi noti nell'arte per preparare il composto finale, ad esempio secondo uno degli schemi di sintesi seguenti:



in cui  $T_1$ ,  $T_B$ ,  $X_2$ ,  $T_{BI}$ ,  $T_C$  sono come sopra definiti,  $R_4$  é scelto tra Cl, Br, Y é come sopra definito,  $X_1$  é il radicale Y privo dell'atomo di ossigeno,  $R_3$  é Cl, Br, Iodio, OH. Se  $R_3 = OH$  il composto di formula (1A.1b) viene sottoposto ad alogenazione, ad es. con  $PBr_3$ ,  $PCl_5$ ,  $SOCl_2$ ,  $PPh_3 + I_2$ , e poi fatto reagire con  $AgNO_3$  in solvente organico come acetonitrile, tetraidrofurano. Se  $R_3$  é Cl, Br, Iodio, il composto di formula (1A.1b) viene fatto reagire direttamente con  $AgNO_3$  come sopra indicato.



C.)



in cui  $R_5 = OH$  oppure  $NHR_{1c}$ , essendo  $R_{1c}$ ,  $R_3$  e gli altri simboli come sopra definiti.

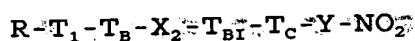
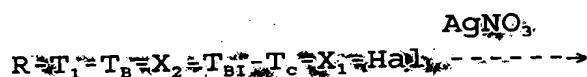
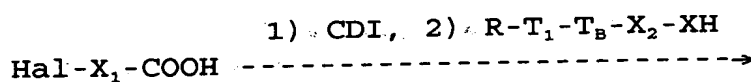
Le reazioni sopra illustrate sono ben note nell'arte. Si

vedano ad es. le domande di brevetto a nome della Richiedente WO 94/12463, WO 95/09831 e WO 95/30641.

Se  $X_1$  é un alchile lineare  $C_4$ , si fa reagire il corrispondente acido  $R-T_1-T_B-X_2-COOH$  con trifenilfosfina in presenza di un agente alogenante come  $CBr_4$  oppure N-bromosuccinimide in tetraidrofurano ottenendo il composto (1A.1c) in cui  $R_3 = Br$ .



2a.2 Se il composto ottenuto alla fine del passaggio precedente 1a. ha formula (IA.2), il nitrossiderivato corrispondente viene ottenuto trattando un acido alogeno-carbossilico di formula  $\text{Hal-X}_1\text{-COOH}$ , essendo  $\text{X}_1$  come sopra definito, dapprima con un agente attivante il carbossile come descritto in 1a.1, e poi con il composto di formula (IA.2), ottenendo un alogeno derivato, che viene isolato e poi sciolto in solvente organico, (rif. paragrafo 2a.1), e trattato con nitrato d'argento. Lo schema di reazione complessivo é il seguente:



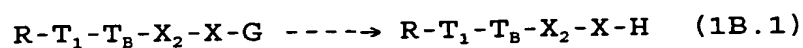
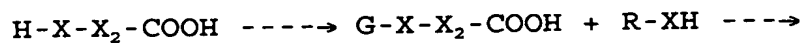
in cui  $\text{T}_1$ ,  $\text{T}_B$ ,  $\text{X}_2$ ,  $\text{T}_{BI}$ ,  $\text{T}_C$ ,  $\text{Y}$  sono come sopra definiti.

In alternativa, si può usare l'alogenuro  $\text{Hal-X}_1\text{-COCl}$  in cui  $\text{Hal}$  é preferibilmente bromo, che viene fatto reagire con il composto di formula (IA.2).

1b. Se il precursore del farmaco ha la funzione reattiva  $\text{HX}$ , in cui  $\text{X}$  é come sopra definito, invece di un gruppo carbossilico, i due gruppi funzionali presenti sul composto precursore di B possono essere i seguenti:

1b.1 Un gruppo carbossilico, che reagisce con la funzione  $\text{HX}$  del precursore del farmaco, ed un gruppo  $\text{HX}$ , essendo quest'ultimo gruppo reattivo del composto precursore di B

uguale o diverso dal gruppo funzionale del precursore del farmaco. La formula del composto precursore di B é del tipo  $H-X-X_2-COOH$ , in cui X e  $X_2$  sono come sopra definiti. La funzione  $H-X-$  del composto precursore di B viene protetta secondo i metodi noti nell'arte e il carbossile viene fatto reagire, come sopra indicato, secondo il seguente schema:



Alla fine della reazione si ripristina la funzione  $HX$  del composto precursore di B.

1b.2 Se il composto precursore di B contiene due gruppi carbossilici, viene trattato con una quantità equimolare di un agente attivante il carbossile nelle condizioni in precedenza descritte in 1a.1, e poi fatto reagire con la funzione reattiva  $HX$  della molecola del precursore del farmaco. Eventuali altre funzioni reattive di tipo  $HX$  presenti nei due composti devono essere protette come in

---

precedenza indicato. Si ottiene alla fine un composto di formula  $R-T_1-T_B-X_2-COOH$  (1B.2).

## 2b. Sintesi del nitrossiderivato

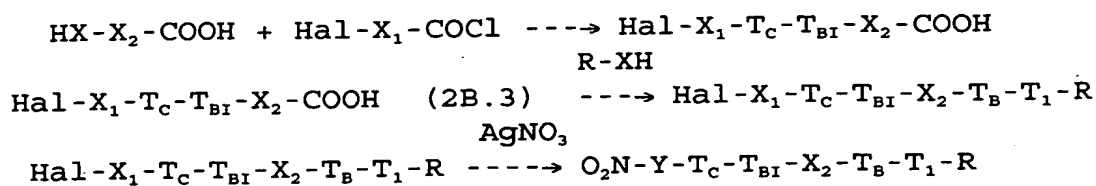
2b.1 Per ottenere il nitrossiderivato finale partendo dal composto di formula  $R-T_1-T_B-X_2-X-H$  (1B.1), ottenuto alla fine della sintesi descritta in 1b.1, si fa reagire il composto (1B.1) con un alogenoacido di formula  $Hal-X_1-COOH$  che

sia stato trattato come descritto in precedenza nel paragrafo 1a.1, oppure con il corrispondente cloruro dell'alogenoacido. Il composto risultante viene sciolto in solvente organico, ad es. acetonitrile o tetraidrofurano, e si fa reagire con nitrato di argento.

2b.2 Per ottenere il nitrossiderivato finale partendo dal composto di formula  $R-T_1-T_2-X_2-COOH$  (1B.2), ottenuto alla fine della sintesi descritta in 1b.2, si trasforma l'acido nel corrispondente sale sodico, si fa reagire con un composto  $R_4-X_1-R_3$ , in precedenza definito nella schema di reazione A. del paragrafo 2a.1, ottenendo secondo il medesimo procedimento ivi indicato il nitrossiderivato finale. In alternativa, se  $X_1$  è un alchile lineare  $C_4$ , si fa reagire l'acido (1B.2) con trifemilfosfina in presenza di un agente alogenante come  $CBR_4$  o N-bromosuccinimide in tetraidrofurano e il composto risultante sciolto in solvente organico ad es. acetonitrile, tetraidrofurano, viene fatto reagire con argento nitrato.

2b.3 In alternativa al procedimento di sintesi secondo 1b.1 e 2b.1, è possibile far reagire in un primo passaggio la funzione  $HX-$  del composto precursore di B  $HX-X_2-COOH$  con il cloruro acilico di un alogenoacido di formula  $Hal-X_1-COCl$ , in cui  $Hal$  è preferibilmente  $Br$ , e successivamente la funzione carbossilica del composto così ottenuto, con il precursore del farmaco  $R-HX$ . Nel terzo ed

ultimo passaggio il gruppo -Hal viene sostituito con -ONO<sub>2</sub> secondo il procedimento descritto in 2b.1. Lo schema di reazione é il seguente:



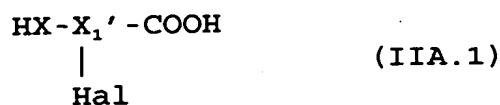
in cui T<sub>C</sub>, T<sub>BI</sub>, T<sub>B</sub>, T<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>1</sub>, Y sono come sopra definiti.

Nel precedente schema la nitratura può essere in alternativa effettuata sul composto acido di formula (2B.3).

B) Sintesi dei composti di formula (II).

1a. Se il precursore del farmaco é di formula R-COOH e il composto precursore di B<sub>1</sub> contiene un solo gruppo funzionale reattivo di formula XH, essendo X come sopra definito, R-COOH viene inizialmente convertito nel corrispondente acil-alogenuro, oppure trattato con un agente attivante il carbossile come descritto in 1a.1, e poi fatto reagire con la funzione HX di un composto alogeno-acido, detta funzione essendo uguale o diversa da quella presen-

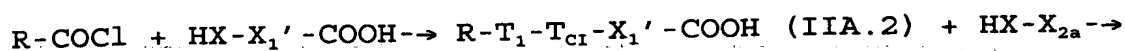
te sul composto precursore di B<sub>1</sub>, detto alogeno-acido avente formula:



in cui X<sub>1</sub>' é Y' come sopra definito senza l'atomo di ossigeno attraverso il quale é legato il gruppo -NO<sub>2</sub>, X e Hal sono come sopra definiti.



Il composto (IIA.1) può venire ottenuto con i metodi noti nell'arte. Ad es. quando  $X = NH$  si può ottenere dal corrispondente idrossi-aminoacido, proteggendo il gruppo amminico tramite il corrispondente ter-butilossicarbonil derivato e trasformando la funzione ossidrilica in gruppo alogeno come descritto per l'alogenazione del composto (1A.1b) in 2a.1. La funzione carbossilica libera del composto risultante dalla reazione con la molecola del precursore del farmaco viene fatta reagire con la funzione presente nella molecola del composto precursore di  $B_1$ , come in precedenza illustrato in 1a.1 per la reazione tra l'acido  $R-COOH$  ed il composto precursore di  $B$ . Nel passaggio finale l'atomo di alogeno ( $Hal$ ) presente sul radicale  $X_1'$  viene sostituito con un gruppo  $ONO_2$ , aggiungendo  $AgNO_3$  a una soluzione organica del composto. Lo schema di reazione è il seguente, esemplificato partendo dall'alogeno dell'acido  $RCOCl$ :



|  
Hal

|  
Hal



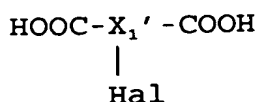
|  
Hal

|  
 $ONO_2$

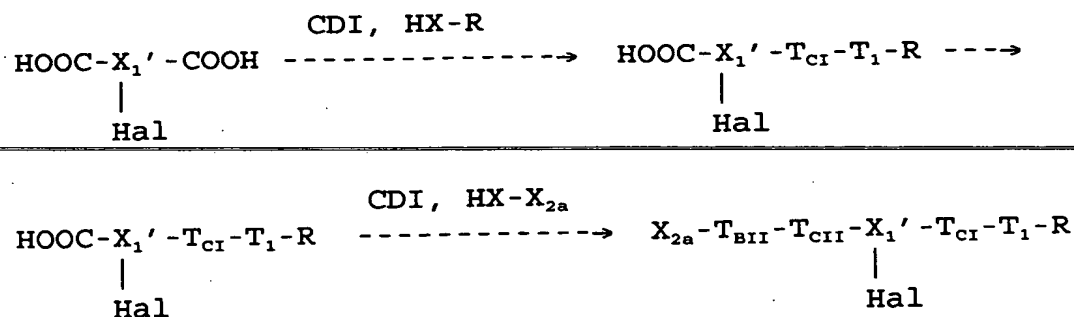
- 1b. Se il precursore del farmaco ed il composto precursore di  $B_1$  contengono ciascuno un gruppo reattivo di formula generale  $XH$ , essendo i due gruppi in ciascuna delle due molecole uguali o diversi tra di loro, in cui  $X$  è come



sopra definito la sintesi viene realizzata partendo da un composto alogenodiacido di formula



essendo  $X_1'$  come sopra definito, detto composto essendo preparato dal corrispondente idrossi-diacido come descritto per l'alogenazione del composto (1A.1b) in 2a.1. Il composto alogenodiacido viene trattato con una quantità equimolare di un agente attivante il carbossile, nelle condizioni in precedenza descritte in 1a.1., e si fa poi reagire con la funzione reattiva della molecola del precursore del farmaco. Nel successivo passaggio la seconda funzione carbossilica viene trattata con un agente attivante, come in precedenza fatto per la prima, e fatta reagire con il composto precursore di  $B_1$  secondo il seguente schema:

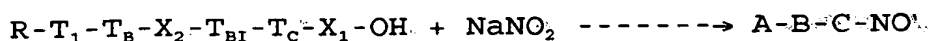


L'atomo di alogeno viene poi sostituito con il gruppo  $\text{ONO}_2$  come sopra si è indicato.

3. Sintesi dei nitroso ( $s = 1$ ) derivati di formula (I).

3a.1 Il composto di formula (1A.1b) in cui  $R_3 = \text{OH}$  viene fatto

reagire con sodio nitrito in un solvente costituito da una miscela di acqua con tetraidrofurano in presenza di acido cloridrico. La reazione é ampiamente illustrata nell'arte nota. Lo schema generale é il seguente:



3a.2 Se il composto ottenuto alla fine del passaggio A in 1a.2

ha formula (IA.2) il nitroso derivato corrispondente viene ottenuto trattando un idrossi-acido di formula  $HO-X_1-COOH$  essendo  $X_1$  come sopra definito, dapprima con un agente attivante il carbossile, come descritto in 1a.1, poi fatto reagire con 1A.2 e il prodotto risultante con sodio nitrito come descritto in 3a.1.

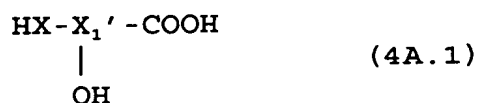
3b.1 Per ottenere il nitroso derivato partendo dal composto di formula  $R-T_1-T_B-X_2-XH$  (1B.1) ottenuto alla fine della sintesi descritta in 1b.1, si fa reagire il composto (1B.1) con un idrossiacido come descritto in 3a.2.

3b.2 Per ottenere il nitroso derivato dal composto di formula  $R-T_1-T_B-X_2-COOH$  (1B.2) ottenuto alla fine della sintesi descritta in 1b.2, si trasforma l'acido nel sale sodico e si fa reagire con un composto  $Hal-X_1-OH$ , come in precedenza descritto, e l'alcool ottenuto si tratta come descritto in 3a.1.

4) Sintesi dei nitroso derivati di formula (II).

4a.1 Se il farmaco é di formula  $R-COOH$  e il composto precursore di  $B_1$  contiene un solo gruppo funzionale reattivo di

formula XH, essendo X come sopra definito, R-COOH viene inizialmente convertito nel corrispondente acil-alogenuro, oppure trattato con un agente attivante il carbossile come descritto in 1a.1, e poi fatto reagire con la funzione HX di un composto idrossi-acido, detta funzione essendo uguale o diversa da quella presente sul composto precursore di B<sub>1</sub>, detto idrossi-acido avente formula:

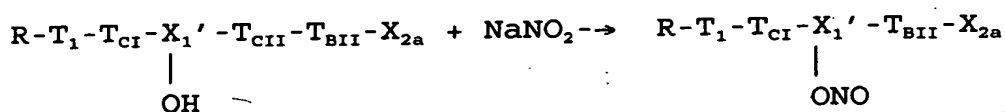
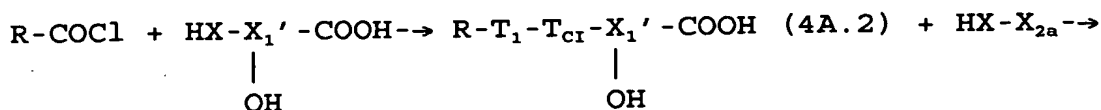


in cui X<sub>1</sub>' é Y' come sopra definito senza l'atomo di ossigeno attraverso il quale é legato il gruppo -NO, X é come sopra definito.

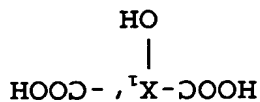
La funzione carbossilica libera del composto risultante dalla reazione con la molecola del farmaco viene fatta reagire con la funzione presente nella molecola del composto precursore di B<sub>1</sub>, come in precedenza illustrato in 1a.1 per la reazione tra l'acido R-COOH ed il composto precursore di B. Nel passaggio finale l'alcool viene tra-

sformato nel nitroso-derivato come descritto in 3a.1.

Lo schema di reazione é il seguente, esemplificato partendo dell'alogenuro dell'acido RCOCl:



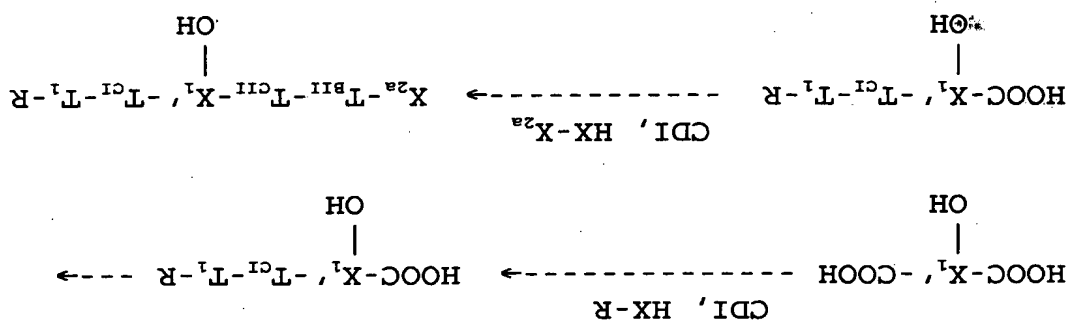
4b. Se il farmaco ed il composto precursore di B<sub>1</sub> contengono ciascuno un gruppo reattivo di formula generale XH, essendo i due gruppi in ciascuna delle due molecole uguali o diversi tra di loro, in cui X è come sopra definito, la sintesi viene realizzata partendo da un composto idrossi-



diacido di formula

essendo X<sub>1</sub>' come sopra definito, detto composto idrossi-

diacido viene trattato con una quantità equimolare di un agente attivante il carbossile, nelle condizioni in precedenza descritte in 1a.1., e si fa poi reagire con la funzione reattiva della molecola del farmaco. Nel successivo passaggio la seconda funzione carbossilica viene trattata con un agente attivante, come in precedenza fatto per la prima, e fatta reagire con il composto precursore di B<sub>1</sub> secondo il seguente schema:



Il composto ottenuto viene fatto reagire come descritto in 3a.1.

I composti oggetto della presente invenzione sono formu-

lati nelle corrispondenti composizioni farmaceutiche per uso parenterale, orale e topico secondo le tecniche ben note nel ramo, unitamente agli usuali eccipienti; si veda ad es. il volume "Remington's Pharmaceutical Sciences" 15<sup>a</sup> ed.

La quantità su base molare del principio attivo in queste formulazioni è la medesima, o inferiore, rispetto a quella usata del corrispondente farmaco precursore.

Le dosi giornaliere somministrabili sono quelle del far-

~~maci precursori, o eventualmente inferiori. Le dosi giornaliere~~

re si possono trovare nelle pubblicazioni del ramo, come ad es nel "Physician's Desk reference".

Gli esempi che seguono hanno lo scopo di illustrare l'in-

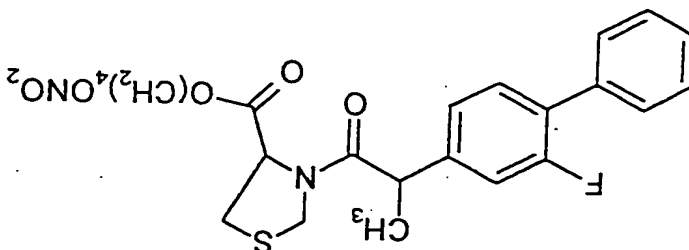
venzione e non devono essere intesi come limitativi della me-

desima.

#### ESEMPIO 1

Sintesi dell'acido 3-[2-fluoro- $\alpha$ -metil-(1,1'-bifenil)-4-ace-  
till]tiazolidin-4-carbossilico 4-(nitrossi)butil estere (NO-

flurbiprene), composto NCX 2002



(NCX 2002)

partendo dal flurbiprene (formula IX) e il precursore di B è  
acido (L)-4-tiazolidin carbossilico (formula PIV)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 7,74-7,62 (4H, m), 7,35 (2H, t), 7,18-7,13 (2H, m), 5,06 (1H, m), 4,63 (1H, d), 4,42 (1H, d), 4,14

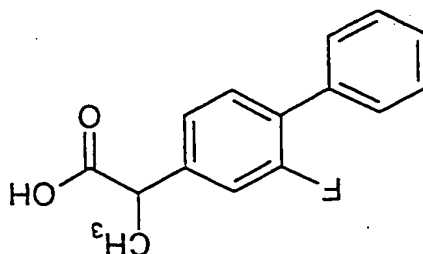
teso nella forma di un solido bianco avente p.f. 142-147°C.

con etile acetato/n-esano si ottengono 9,4 g del prodotto at-  
sodio e si evapora a pressione ridotta. Per cristallizzazione  
poi con acqua. Si anidriflica la fase organica con solfato di  
etile acetato e si lava la fase organica prima con HCl 2 N,  
HCl 4 N, si concentra sotto vuoto, si riprende il residuo con  
acetone (50 ml) raffreddata a 0°C. Dopo 2 ore si acidifica con  
(5,44 g, 41 mmoli) e trietilammina (14,9 ml, 106 mmoli) in  
aggiunta a una soluzione di acido 4-tiazolidincarbossilico  
tenuto viene sciolto in acetone (50 ml) e la soluzione viene  
soluzione viene evaporata a pressione ridotta. Il residuo ot-  
ro (3,52 ml, 82 mmoli). Dopo 2 ore a temperatura ambiente, la  
formamide (10 ml) raffreddata a 0°C, si aggiunge ossalilcloru-  
4-acetico (10 g, 41 mmoli) in toluene (100 ml) e N,N-dimetil-  
A una soluzione di acido 2-fluoro-α-metil-(1,1'-bifenil)-

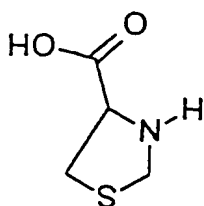
acetil]tiazolidin-4-carbossilico

a) Sintesi dell'acido 3-[2-fluoro-α-metil-(1,1'-bifenil)]-4-

(IX)



(Piv)



(1H, q), 3,13 (2H, m), 1,53 (3H, d).

b) Sintesi dell'acido 3-[2-fluoro- $\alpha$ -metil-(1,1'-bifenil)]-4-

acetil]tiazolidin-4-carbossilico 4-(bromobutil) estere

A una soluzione dell'acido ottenuto nel precedente pas-

saggio a) (9,43 g, 26,24 mmol) in tetraidrofurano (150 ml) si

aggiungono trifenilfosfina (13,76 g, 52,49 mmol) e tetrabro-

muro di carbonio (17,4 g, 52,49 mmol). La miscela di reazione

viene lasciata sotto agitazione per 24 ore a temperatura am-

biente. Si allontana il solvente per evaporazione a pressione

ridotta. Si purifica il grezzo ottenuto per cromatografia su

gel di silice eluendo con n-esano/etile acetato 8/2. Si otten-

gono 2,25 g dell'estere nella forma di un olio.

c) Sintesi dell'acido 3-[2-fluoro- $\alpha$ -metil-(1,1'-bifenil)]-4-

acetil]tiazolidin-4-carbossilico 4-(nitrossi)butil estere

A una soluzione dell'estere ottenuto alla fine del prece-

dente passaggio (2,6 g, 5,26 mmol) in acetonitrile (20 ml) si

aggiunge argento nitrato (1,07 g, 6,3 mmol). La miscela di

reazione viene scaldata per 4 ore al riflusso al riparo dalla

luce. Si allontana per filtrazione il sale formatosi e si eva-

pora la soluzione a pressione ridotta. Il residuo ottenuto

viene purificato per cromatografia su gel di silice eluendo

con n-esano/etile acetato 7/3. Si ottengono 0,84 g dell'acido

3-[2-fluoro- $\alpha$ -metil-(1,1'-bifenil)]-4-acetil]tiazolidin-4-car-

bossilico 4-(nitrossi)butil estere nella forma di un olio.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 7,56-7,09 (8H, m), 5,77 (1H, dd), 4,67

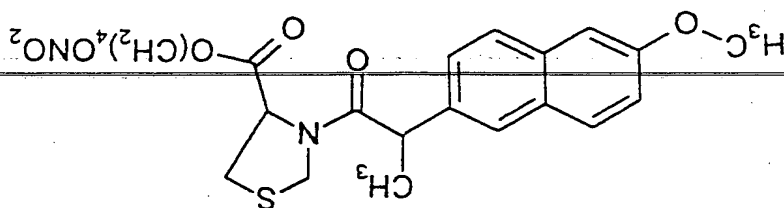


(2H, d), 4,51 (2H, t), 4,24 (2H, t), 4,15 (1H, q), 3,30-3,17 (2H, m), 1,74-1,70 (4H, m), 1,52 (3H, d).

## ESEMPIO 2

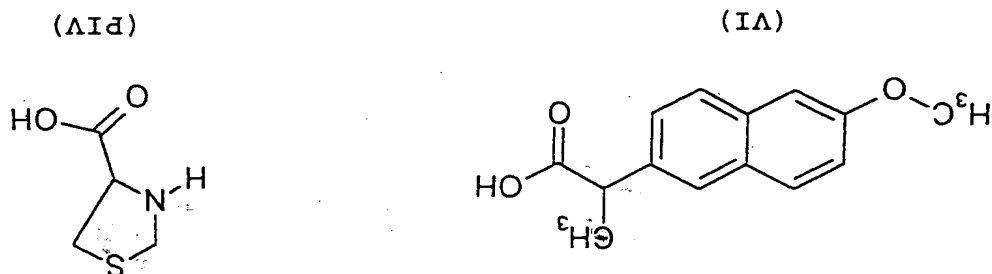
Sintesi dell'acido 3-(6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalenacetil) tiazolidin-4-carbossilico 4-(nitrossi)butil estere (NO-Naproxene)

(NCX2001)



(NCX 2001)

partendo da naproxene (formula VI) e il precursore di B è acido (L)-4-tiazolidin-carbossilico (formula PIV)



a) Sintesi dell'acido 3-(6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalenacetil) tiazolidin-4-carbossilico

A una soluzione di acido 6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalenace-

tico (4,02 g, 17,5 mmol) in toluene (30 ml) e N,N-dimetilfor-

mamide (0,3 ml) raffreddata a 0°C, si aggiunge ossalilcloruro

(2,92 ml, 34,06 mmol). Dopo 2 ore a temperatura ambiente, la

soluzione viene evaporata a pressione ridotta. Il residuo ot-

tenuto viene sciolto in acetone (50 ml) e la soluzione viene



aggiunta a una soluzione di acido 4-tiazolidincarbossilico (2,33 g, 17,5 mmol) e trietilammina (6,34 ml, 45,5 mmol) in acetone (50 ml) raffreddata a 0°C. Dopo 2 ore si acidifica con HCl 4 N, si concentra sotto vuoto, si riprende il residuo con etile acetato e si lava la fase organica prima con HCl 2 N, poi con acqua. Si anidriflica la fase organica con solfato di sodio e si evapora a pressione ridotta. Si ottengono 4,43 g del prodotto atteso nella forma di un solido bianco avente

p.f. 165-168°C.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 7,75-7,66 (3H, m), 7,34 (1H, d), 7,14-7,11 (2H, m), 5,14 (1H, m), 4,80-4,61 (2H, m), 4,07 (1H, q), 3,91 (3H, s), 3,30-3,23 (2H, m), 1,53 (3H, d).

b) Sintesi dell'acido 3-(6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalenacetil) tiazolidin-4-carbossilico 4-(bromobutil) estere

A una soluzione dell'acido ottenuto nel precedente passaggio a) (4 g, 11,6 mmol) in tetraidrofurano (50 ml) si aggiungono trifenilfosfina (6,07 g, 23,1 mmol) e tetrabromuro di carbonio (7,66 g, 23,2 mmol). La miscela di reazione viene lasciata sotto agitazione per 24 ore a temperatura ambiente. Si allontana il solvente per evaporazione a pressione ridotta. Si purifica il grezzo ottenuto per cromatografia su gel di silice eluendo con n-esano/etile acetato 7/3. Si ottengono 2,25 g dell'estere nella forma di un olio.

c) Sintesi dell'acido 3-(6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalenacetil) tiazolidin-4-carbossilico 4-(nitrossi)butil estere

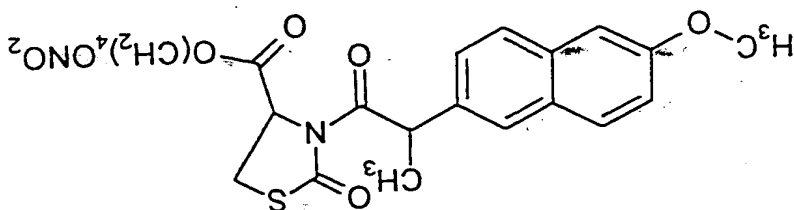
A una soluzione dell'estere ottenuto alla fine del precedente passaggio (2 g, 4,16 mmol) in acetonitrile (20 ml) si aggiunge argento nitrato (0,85 g, 5 mmol). La miscela di reazione viene scaldata per 5 ore al riflusso al riparo dalla luce. Si allontana per filtrazione il sale formatosi e si evapora la soluzione a pressione ridotta. Il residuo ottenuto viene purificato per cromatografia su gel di silice eluendo con n-esano/etile acetato 7/3. Si ottengono 0,99 g dell'acido 3-(6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalenacetil) tiazolidin-4-carbossilico 4-(nitrossi)butil estere nella forma di un olio.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 7,66 (3H, m), 7,38 (1H, m), 7,15 (2H, m), 5,06 (1H, dd), 4,66 (2H, d), 4,51 (2H, t), 4,25 (2H, t), 3,98 (1H, q), 3,92 (3H, s), 3,13 (2H, d), 1,84 (4H, m), 1,53 (3H, d).

### ESEMPIO 3

Sintesi dell'acido 3-(6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalenacetil) - (R) - 2-oxotiazolidin-4-carbossilico 4-(nitrossi) butil estere

(NCX 2150)

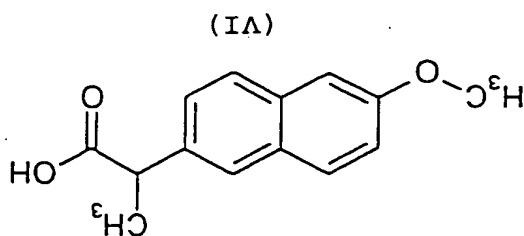


(NCX 2150)

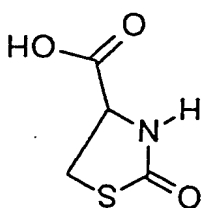
partendo da naproxene (formula VI) e il precursore di B è ac-



a) sintesi dell'acido 3-(6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalenacetil)-(R)-2-oxotiazolidin-4-carbossilico



(IΛ)



(Pv)

do (L)-2-oxo-4-tiazolidin carbossilico (Formula PV)

b) Sintesi dell'acido 3-(6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalenace-til)- (R)-2-oxotiazolidin-4-carbossilico 4-(bromobutil) estere  
A una soluzione di acido 3-(6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftale-  
nacetil)- (R)-2-oxotiazolidin-4-carbossilico (6,79 g, 18,9 mmol-  
li) in tetraidrofurano (100 ml) si aggiunge trifenilfosfina  
(9,91 g, 37,8 mmol) e tetrabromuro di carbonio (12,53 g,  
37,8 mmol). La miscela di reazione viene lasciata sotto agi-  
tazione per 16 ore a temperatura ambiente, quindi si allontana  
il solvente per evaporazione a pressione ridotta. Si purifica  
il grezzo ottenuto per cromatografia su gel di silice eluendo  
con n-esano/etile acetato 7/3. Si ottengono 1,83 g dell'estere  
nella forma di un olio.

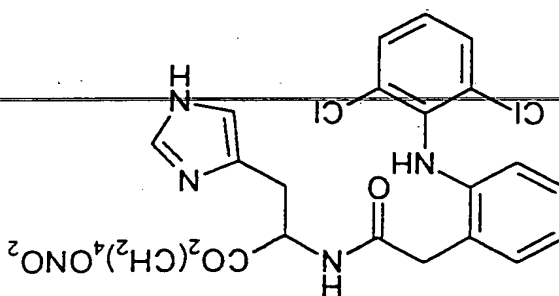
c) Sintesi dell'acido 3-(6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalenace-  
til)- (R)-2-oxotiazolidin-4-carbossilico 4-(nitrobutil) estere  
A una soluzione dell'estere ottenuto alla fine del prece-  
dente passaggio (1,7 g, 3,44 mmol) in acetonitrile (20 ml) si  
aggiunge argento nitrato (0,82 g, 4,81 mmol). La miscela di  
reazione viene scaldata per 6 ore al riflusso al riparo dalla  
luce. Si allontana per filtrazione il sale formato e si eva-  
pora la soluzione a pressione ridotta. Il residuo ottenuto  
viene purificato per cromatografia su gel di silice eluendo  
con n-esano/etile acetato 7/3. Si ottengono 0,77 g di acido  
3-(6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalenacetil)- (R)-2-oxotiazolidin-4-  
carbossilico 4-(nitrossi)butil estere nella forma di un olio.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 7,74-7,67 (3H, m), 7,47 (1H, m), 7,14-7,10

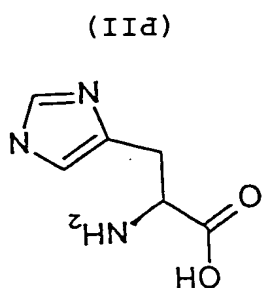
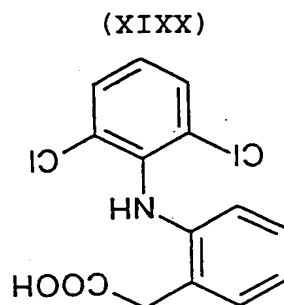
(2H, m), 5,28 (1H, dd), 4,12-3,91 (5H, m), 3,90 (3H, s), 3,63 (1H, dd), 3,33 (1H, dd), 1,55 (3H, d), 1,30-1,23 (4H, m).

#### ESEMPIO 4

Sintesi di [2-[(2,6-diclorofenil)ammino]benzenacetilossil]-  
(L)-istidina 4-(nitroossil)butil estere



In cui il farmaco precursore del composto dell'invenzione è  
diclofenac di formula (XXIX) e il composto precursore di B è  
(L)-istidina di formula (PII):



a) sintesi di [2-[(2,6-diclorofenil)ammino]benzenacetilossil]-  
si] (L)-istidina

A una soluzione di diclofenac (3 g, 10,13 mmol) in tetraidrofurano (50 ml) raffreddata a 0°C, si aggiunge sotto agitazione 1,1'-carbonyldimidazolo (1,69 g, 10,13 mmol). Dopo 10 minuti la soluzione si tratta con (L) istidina (1,57 g, 10,13 mmol) e si lascia sotto agitazione a tempera-

tura ambiente per 4 ore. La miscela di reazione viene concentrata sotto vuoto, ripresa con metilene cloruro, e poi lavata in successione con HCl 1% e con acqua. La fase organica si acidifica con sodio solfato e si evapora sotto vuoto. Il residuo ottenuto viene purificato per cromatografia su colonna di gel di silice, eluendo con etile acetato. Si ottiene 2-[(2,6-diclorofenil)ammino]benzeneacetilossi] (L)-istidina.

b) Sintesi di 2-[(2,6-diclorofenil)ammino]benzeneacetilossi-

si] (L)-istidina 4-bromobutill estere

A una soluzione di 2-[(2,6-diclorofenil)ammino]benzeneacetilossi] (L)-istidina (5 g, 11,54 mmol) in tetraidrofurano (100 ml) sotto agitazione si aggiungono trifenilfosfina (9,08 g, 34,62 mmol) e tetrabromuro di carbonio (11,48 g, 34,62 mmol). La miscela di reazione si lascia a temperatura ambiente sotto agitazione per 24 ore, quindi si allontana il solvente per evaporazione a pressione ridotta. Il grezzo ottenuto si purifica per cromatografia su gel di silice eluendo con n-esano/etile acetato 1/1. Si ottiene (S)-2-[(2,6-diclorofenil)ammino]benzeneacetilossi] (L)-istidina 4-bromobutill estere.

c) Sintesi di 2-[(2,6-diclorofenil)ammino]benzeneacetilossi-  
si] (L)-istidina 4-nitroossibutill estere

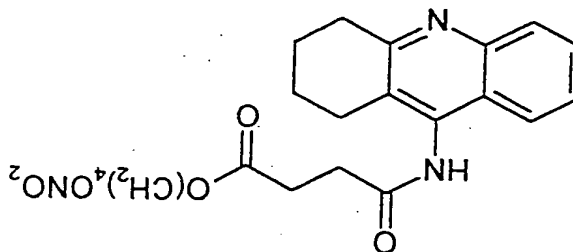
A una soluzione di 2-[(2,6-diclorofenil)ammino]benzenea-

cetilossi] (L)-istidina 4-bromobutill estere (3 g, 5,28 mmol) in acetone nitrile (30 ml) si aggiunge argento nitrato (1,79 g, 10,56 mmol). La miscela di reazione si scalda a riflusso per

6 ore al riparo dalla luce, si allontana per filtrazione il sale che si è formato e si evapora la soluzione a pressione ridotta. Il residuo ottenuto si purifica per cromatografia su colonna di gel di silice eluendo con n-esano/etile acetato 1/1. Si ottiene [2-[(2,6-diclorofenil)ammino]benzeneacetilossil] (L)-istidina 4-nitroossibutilestere. Resa 35%.

#### ESEMPIO 5

Sintesi di: 5-[[4-oxo-(4-nitroossibutilossi)butanil]ammino]-1,2,3,4-tetraidroacridina

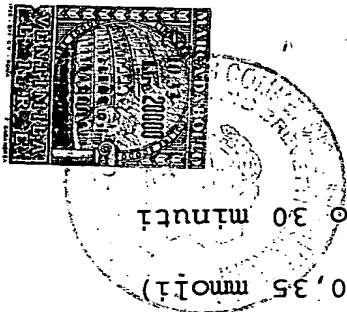


In cui il farmaco precursore del composto dell'invenzione è tacrina di formula (XXXV) e il composto precursore del pontante B è acido succinico di formula (RI):



a) Sintesi di acido succinico 4-clorobutyl monoestere

A una soluzione di anidride succinica (2 g, 19,98 mmol) in cloroformio (30 ml), raffreddata a 0°C si aggiungono sotto agitazione N,N'-dicicloesilcarbodiimmide (4,2 g, 20,35 mmol) e 4-dimetilamminopiridina (100 mg, 0,8 mmol). Dopo 30 minuti



si aggiunge 4-clorobutano (2,1 g, 19,35 mmol). La miscela di reazione si lascia a temperatura ambiente per 7 ore sotto agitazione, quindi si acidifica con HCl 5% e si estrae con etile acetato. La fase organica si lava con salamoia, si acidifica con sodio solfato e si evapora a pressione ridotta. Il grezzo si purifica per cromatografia su colonna di gel di silice eluendo con metilene cloruro/metano 8/2. Si ottiene acido succinico 4-clorobutyl monoestere.

b) sintesi di 5-[[4-Oxo-(4-clorobutyl)ossi]butanoil]ammino]-1,2,3,4-tetraidroacridina

A una soluzione di acido succinico 4-clorobutyl monoestere (2,9 g, 10,02 mmol) in N,N-dimetilformamide (30 ml), raffreddata a 0°C, si aggiungono sotto agitazione N,N'-dicicloesilcarbodiimmide (2,2 g, 10,66 mmol) e 4-dimetilamminopiridina (100 mg, 0,8 mmol). Dopo 5 minuti si aggiunge taccrina (2 g, 10,08 mmol). La miscela di reazione si lascia a temperatura ambiente per 24 ore, quindi si acidifica con HCl 5% e si estrae con etile acetato. La fase organica si lava con salamoia, si acidifica con sodio solfato e si evapora a pressione ridotta. Il grezzo si purifica per cromatografia su gel di silice eluendo con metilene cloruro/metano 8/2. Si ottiene 5-[[4-Oxo-(4-clorobutyl)ossi]butanoil]ammino]-1,2,3,4-tetraidroacridina.



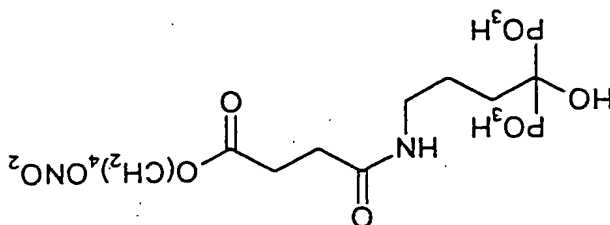
c) Sintesi di 5-[[4-oxo-(4-nitroossibutilossi)butanil]ammi-  
no]-1,2,3,4-tetraidroacridina

A una soluzione di 5-[4-oxo-(4-clorobutilossi)buta-  
noil]ammino]-1,2,3,4-tetraidroacridina (3 g, 7,71 mmol) in  
acetoneitrile (50 ml) si aggiunge sotto agitazione argento ni-  
trato (1,79 g, 10,56 mmol). La miscela di reazione si scalda  
a refluxo per 36 ore al riparo dalla luce, si allontana per  
filtrazione il sale che si è formato e la soluzione si evapora

a pressione ridotta. Il residuo ottenuto si purifica per cro-  
matografia su colonna di gel di silice eluendo etile acetato.  
Si ottiene 5-[[4-oxo-(4-nitroossibutilossi)butanil]ammino]-  
1,2,3,4-tetraidroacridina. Resa 27%.

#### ESEMPIO 6

Sintesi dell'acido [4-ammino-[4-oxo-(4-nitroossibutilossi)buta-  
noil]-1-idrossibutiliden] bifosfonico



in cui il farmaco precursore del composto dell'invenzione è  
alendronato di formula (XXXVI) e il composto precursore del  
pontante B è acido succinico di formula (RI):

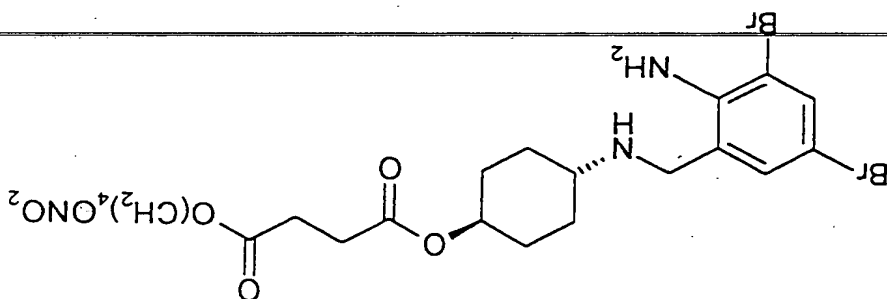


Il composto viene sintetizzato seguendo la procedura di

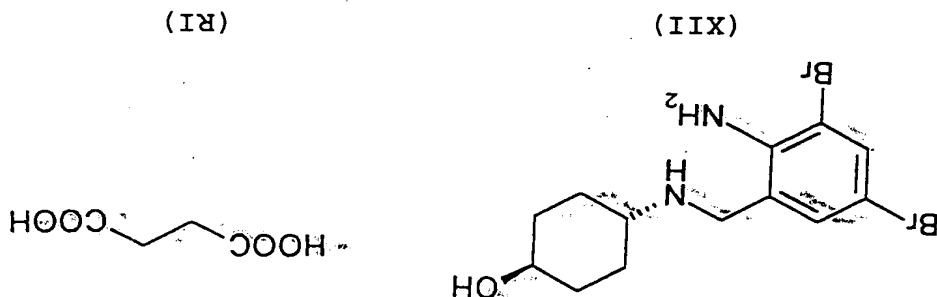
sintesi riportata nell'esempio 5. Resa 19%.

# ESEMPIO 7

Sintesi di [4-oxo-(4-nitrossibuttilossi)butanoli 4-(2-ammino-3,5-dibromofenil)-metilammino] cicloesanoil estere



in cui il farmaco precursore del composto dell'invenzione amproxiolo di formula (XII) e il composto precursore del pontante B è acido succinico di formula (RI):



a) Sintesi di 4-[(2-Tert-butoxycarbonilammino-3,5-dibromofenil)-metilammino] trans cicloesanoil

A una miscela di 4-[(2-ammino-3,5-dibromofenil)-metilammino] cicloesanoil (5 g, 13,22 mmoli) in diossano (35 ml) e acqua (50 ml), si aggiungono sotto agitazione trietilammmina (3,31 ml, 23,7 mmoli) e di-tert-butil dicarbonato (3,46 g, 15,86 mmoli). Dopo 24 ore la soluzione si concentra sotto vuoto, si tratta con HCl 1% fino ad avere nella soluzione pH neu-



tro, e si estrae con etile acetato. La fase organica si anidrica con sodio solfato e si evapora sotto vuoto. Si ottiene 4-[(2-tert-butossicarbonilammino-3,5-dibromofenil) metil ammi- no]cicloesano che viene usato senza ulteriore purificazione. b) Sintesi di [4-Oxo-(4-clorobutilossi)butanoil]-4-(2-tert-butossicarbonilammino-3,5-dibromofenil) metilammino] cicloe- sanol estere

A una soluzione di acido succinico 4-clorobutil monoeste-

re (4 g, 19,18 mmol) in tetraidrofurano (40 ml), si aggiunge sotto agitazione 1,1'-carbonildimidazolo (3,4 g, 20,96 mmol). Dopo 10 minuti la soluzione si tratta con 4-[(2-tert-butossicarbonilammino-3,5-dibromofenil) metil ammino]cicloesano- lo (9,8 g, 20,5 mmol) e si lascia a temperatura ambiente per 4 ore. La miscela di reazione viene concentrata sotto vuoto, ripresa con metilene cloruro, lavata con HCl 1% e poi con acetato. La fase organica si anidrica con sodio solfato e si evapora sotto vuoto. Il residuo ottenuto viene purificato per cromatografia su colonna di gel di silice, eluendo con n-esano/etile acetato 1/1. Si ottiene [4-oxo-(4-clorobutilossi)butanoil]-4-(2-tert-butossicarbonilammino-3,5-dibromofenil) metilammino] cicloesanol estere.

c) Sintesi di [4-Oxo-(4-nitroossibutilossi)butanoil]-4-(2-tert-butossicarbonilammino-3,5-dibromofenil) metilammino] cicloe- sanol estere

A una soluzione di [4-oxo-(4-clorobutilossi)butanoil]-4-

(2-tert-butossicarbonilammino-3,5-dibromofenil) metilammino] cicloesanol estere (4 g, 5,98 mmol) in acetone (70 ml) si aggiunge sotto agitazione argento nitrato (1,5 g, 8,83 mmol). La miscela di reazione si scalda a riflusso per 24 ore al riparo dalla luce, si allontana per filtrazione il sale che si è formato e la soluzione si evapora a pressione ridotta. Il residuo ottenuto si purifica per cromatografia su gel di silice eluendo con n-esano/etile acetato 7/3. Si ottiene [4-oxo-(4-nitroossibutilossi)butanol-4-(2-tert-butossicarbonilammino-3,5-dibromofenil) metilammino] cicloesanol estere.

d) sintesi di [4-[4-oxo-(4-nitroossibutilossi)butanol] (2-ammino-3,5-dibromo fenil) metilammino] cicloesanol estere

A una soluzione di [4-oxo-(4-nitroossibutilossi)butanol-4-(2-tert-butossicarbonilammino-3,5-dibromofenil) metilammino] cicloesanol estere (3,2 g, 4,6 mmol) in etile acetato (50 ml), raffreddata a 0°C, si aggiunge sotto agitazione etile acetato/HCl 5N (6,5 ml). La soluzione si lascia a 0°C per 4 ore, si filtra il precipitato. Il grezzo ottenuto si riprende con etile acetato e si tratta con sodio bicarbonato al 5%, poi con acqua. La fase organica si anidriflica su sodio solfato e si evapora a pressione ridotta. Si ottiene [4-oxo-(4-nitroossibutilossi)butanol-4-(2-ammino-3,5-dibromo fenil) metilammino] cicloesanol estere. Resa 17%.

## PROVE FARMACOLOGICHE

## ESEMPIO

## Tossicità Acuta

La tossicità acuta è stata valutata somministrando ad un gruppo di 10 topi dal peso di 20 g una dose singola di ognuno dei composti in esame, mediante cannula, per via orale in una sospensione acquosa di carbossimetilcellulosa 2% p/v.

Gli animali vengono tenuti sotto osservazione per

~~14 giorni. In nessuno degli animali del gruppo si è verificata~~

la comparsa di sintomi tossici, anche dopo somministrazione di

una dose di 100 mg/kg.

## ESEMPIO F1

Test 1 - modello sperimentale in vivo con N-etilmaleimide (NEM): studio della tollerabilità gastrica di alcuni farmaci delle classi elencate nella descrizione

Gli animali (ratte, peso circa 200 g) sono divisi in due gruppi, di cui uno viene trattato con NEM. Vengono costituiti i seguenti gruppi (n. 10 animali per gruppo):

A) Gruppi controllo:

1° gruppo: trattamento: solo veicolo (sospensione ac-

quosa 1% p/v di carbossimetilcellulosa,

dose: 5 ml/kg se il farmaco viene somministra-

to per via orale, soluzione fisiologica se la

via è parenterale),

2° gruppo: trattamento: veicolo + NEM,

## B) Gruppi somministrati con ciascun farmaco:

gruppo I: trattamento: veicolo + farmaco,

gruppo II: trattamento: veicolo + farmaco + NEM.

I farmaci presi in considerazione per questo esperimento sono i seguenti (vedi Tabella I): indometacina, ambroxolo, mesalamina, alendronato sodico, tacrina, omeprazolo, misoprostol.

Indometacina, ambroxolo e alendronato vengono somministrati per via orale, la mesalamina per via intracolonica

(rettale) e la tacrina, omeprazolo, misoprostol per via sottocutanea.

La dose massima tollerabile, determinata per ciascuna

sostanza somministrata a ratti non trattati con NEM, utilizzando

zando la via di somministrazione come sopra indicato, e riportata in tabella I. Somministrando agli animali dosi

maggiori di quelle riportate in tabella si sono evidenziati enteropatia, diarrea, depressione, tremore e

sedazione.

In questo modello sperimentale gli animali vengono prima

trattati con NEM per iniezione sottocutanea alla dose di

25 mg/kg in soluzione fisiologica. Il farmaco viene somministrato un'ora dopo, in sospensione nel veicolo. Gli animali

vengono sacrificati dopo 24 ore e si procede alla valutazione

del danno alla mucosa gastrointestinale contando il numero di

ratti, all'interno di ogni gruppo, il cui stomaco presenta

all'esame visivo lesioni. Il numero totale dei ratti con stomaco lesionato viene diviso per il numero totale di ratti del gruppo e moltiplicato per 100. Le percentuali che sono ottenute sono riportate in Tabella I. La tabella indica che nei gruppi di ratti trattati con i farmaci in assenza di NEM non si sono avute lesioni gastriche. Nei gruppi trattati con NEM tutti i ratti hanno riportato lesioni dopo somministrazione con i seguenti farmaci: indometacina, ambroxolo, mesalamina,

alendronato sodico, tacrina. Questi farmaci pertanto si possono utilizzare per preparare i prodotti dell'invenzione. Omeprazolo e misoprostol non si possono utilizzare, in base a questo test, per preparare i prodotti dell'invenzione.

**ESEMPIO F2**

Test 2 (in vitro): inibizione dell'apoptosi (frammentazione del DNA) indotta nelle cellule endoteliali da CIP in presenza di alcuni farmaci delle classi elencate nella descrizione

I seguenti farmaci precursori (Tab. II): indometacina, paracetamolo, clopidogrel, salbutamolo, ambroxolo, alendronato sodico, difillina, cetirizina, enalapril, nicotinamide, ampicillina, aciclovir, mesalamina, tacrina, simvastina, omeprazolo sono stati provati nel test.

Cellule endoteliali umane della vena ombelicale vengono preparate secondo una procedura standard. Vene ombelicali fresche, appena prelevate, vengono riempite con una soluzione di collagenasi allo 0,1% ed incubate a 37°C per 5 minuti.



Successivamente le vene vengono perfuse con medium M 199 (GIBCO, Grand Island, NY) pH 7,4 con 0,1% (peso/volume) di collagenasi, supplementato con 10% di siero di feto bovino (10 mcg/ml), eparina sodica (50 mcg/ml), timidina (2,4 mcg/ml), glutamina (230 mcg/ml), penicillina (100 UI/ml), streptomicina (100 mcg/ml) e streptomicina B (0,125 mcg/ml). Le cellule sono raccolte dal perfusato mediante centrifugazione a 800 g/minuto e coltivate in fiaschi di coltura T-75, pretrattati con fibronectina umana. Le cellule vengono quindi

coltivate nello stesso medium, aggiunto del fattore di crescita ipotalamico di origine bovina (100 ng/ml). Quando le cellule della coltura di cellule primarie (direttamente prelevate dal vivo) formano uno strato singolo di cellule tra di loro confluenti (circa 8.000.000 cellule/fiasco), la coltura viene interrotta, e gli strati lavati e tripsinizzati. Le sospensioni cellulari vengono trasferite in ciascun pozzetto di una piastra di coltura a 24 pozzetti la metà dei quali addizionati dello stesso medium contenente il farmaco a una concentrazione  $10^{-4}$ M, e coltivate in termostato a 37°C a umidità costante (90%),  $\text{CO}_2 = 5\%$ . Il farmaco, se insolubile nel medium di coltura, viene sciolto in una piccola quantità di dimetilsolfido. La quantità massima di dimetilsolfido che può essere aggiunta al medium di coltura è dello 0,5%. Soltanto le cellule provenienti da queste prime sottocolture vengono usate per gli esperimenti con cumene idroperossido (CIP). Le cellule



vengono identificate come cellule endoteliali mediante esame morfologico e mediante la specifica reazione immunologica verso il fattore VIII; queste colture non hanno evidenziato contaminazioni da micociti o fibroblasti.

Prima di iniziare il test, il medium di coltura cellulare viene rimosso e gli strati cellulari vengono cautamente lavati con una soluzione standard fisiologica tamponata con fosfato 0,1 M pH 7,0, alla temperatura di 37°C. Tutti i pozzetti vengono quindi incubati per un'ora con CIP a concentrazione 5 mM.

La valutazione del danno cellulare (apoptosi) viene effettuata misurando la variazione percentuale della frammentazione del DNA rispetto al gruppo controllo, che viene determinata valutando la variazione di fluorescenza mediante microscopio BX60 Olympus (Olympus Co., Roma) alla lunghezza d'onda di 405-450 nm, rispetto alla densità ottica dei controlli trattati solo con CIP. Per ogni prova vengono eseguite 5 repliche. La valutazione statistica è stata effettuata con t di Student. I risultati riportati nella Tabella II indicano che in-

dometacina, paracetamolo, clopidogrel, salbutamolo, alendronato sodico, difillina, cetirizina, enalapril, nicotinamide, ampicillina, aciclovir, tacrina, omeprazolo non inibiscono l'apoptosi; questi farmaci pertanto si possono utilizzare per preparare i prodotti dell'invenzione.

Invece ambroxolo, mesalamina e simvastatina inibiscono l'apoptosi. Pertanto in base a questo test questi composti

non si possono utilizzare per preparare i prodotti dell'inven-  
zione.

### ESEMPIO F3

Test 3 - modello sperimentale in vivo con N<sup>o</sup>-nitro-L-arginina-  
metil estere (L-NAME): tollerabilità gastrica (incidenza del  
danno gastrointestinale), epatica (dosaggio GPT, transaminasi  
glutammico-piruvica) e cardiovascolare (pressione ematica) di  
alcuni farmaci delle classi elencate nella descrizione.

Il modello sperimentale adottato è tratto da J. Clin.  
Investigation 90, 278-281, 1992.

La disfunzione endoteliale viene valutata determinando il  
danno alla mucosa gastrointestinale, il danno epatico e l'i-  
perensione sanguigna indotti da L-NAME.

Gli animali (ratte, peso medio 200 g) sono divisi in due  
gruppi, di cui uno riceve per 4 settimane L-NAME disciolto  
alla concentrazione di 400 mg/litro nell'acqua da bere. Vengo-  
no costituiti i seguenti gruppi (n. 10 animali per gruppo):

- A) Gruppi controllo:
- 1° gruppo: trattamento: solo veicolo (sospensione ac-  
quosa 1% p/v di carbossimetilcellulosa, dose:  
5 ml/kg se il farmaco viene somministrato per  
via orale, soluzione fisiologica se la via è  
parenterale),
- 2° gruppo: trattamento: veicolo + L-NAME,
- B) Gruppi trattati con ciascun farmaco:



Il farmaco soddisfa il test 3, e quindi può essere utilizzato per preparare i composti dell'invenzione, quando nel gruppo di ratti trattati con L-NAME e il farmaco si riscontrano danni epatici (GPT) e/o gastrici e/o cardiovascolari (pressione ematica) maggiori rispetto al gruppo trattato con il solo veicolo, al gruppo trattato con veicolo + farmaco, al

ruvica (aumento di GPT) dopo il sacrificio. Il danno alla mucosa gastrica viene valutato come indicato in precedenza nel test 1. Quello all'endotelio vascolare mediante gli effetti cardiovascolari indotti (aumento della pressione sanguigna) da L-NAME. Il danno epatico viene determinato mediante valutazione della transaminasi glutammico-pi-

ematica. Un'ora prima del sacrificio si determina la pressione viene impedito e dopo 24 ore gli animali vengono sacrificati. Al termine delle quattro settimane l'accesso all'acqua

~~sempio F1.~~

La dose massima tollerabile del farmaco somministrata negli animali viene determinata valutando l'insorgenza negli animali della sintomatologia descritta in precedenza nell'e-

viene somministrato una volta al giorno per 4 settimane. I farmaci usati nella prova sono paracetamolo, doxorubi-

4° gruppo: trattamento: veicolo + farmaco + L-NAME.  
3° gruppo: trattamento: veicolo + farmaco,

gruppo trattato con veicolo + L-NAME.

I risultati del test sono riportati in Tabella IV. Le

lesioni gastriche & sono state determinate come nel Test 1. I

valori di GPT & di pressione ematica & sono riferiti al va-

lore corrispondente trovato negli animali del 1° gruppo con-

trollo. Il valore medio della pressione ematica in questo

gruppo è stato di  $105 \pm 8$  mmHg.

I risultati ottenuti indicano che paracetamolo, doxorubi-

cina e simvastatina provocano danno epatico e gastroenteropa-

tia (GPT & e le lesioni gastriche sono & maggiori sia rispetto

ai gruppi corrispondenti trattati con il farmaco in assenza di

L-NAME che rispetto ai controlli trattati con L-NAME). Questi

farmaci pertanto si possono utilizzare per preparare i prodot-

ti dell'invenzione.

Omeprazolo e misoprostol non si possono utilizzare, in

base a questo test, per preparare i prodotti dell'invenzione.

#### ESEMPIO #4

Test 4: inibizione della produzione di radicali da DPPH da

parte di alcune sostanze usate per preparare i precursori di B

o di B<sub>1</sub> (rif. Formule I e II dell'invenzione).

Il metodo si basa su un saggio colorimetrico in cui si

impiega DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) (M.S. Nenseter

et AL., Atheroscler. Thromb. 15, 1338-1344, 1995).

Vengono inizialmente preparate soluzioni in metanolo del-

le sostanze in esame a concentrazione finale 100  $\mu$ M. 0,1 ml di

ognuna di queste soluzioni vengono aggiunti a 1 ml di una soluzione metanolica 0,1 M di DPPH e poi si porta al volume finale di 1,5 ml. Dopo aver conservato le soluzioni a temperatura ambiente e al riparo dalla luce per 30 minuti, si legge l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 517 nm. Si determina la diminuzione di assorbanza rispetto a quella della soluzione che contiene la stessa concentrazione di DPPH. La capacità del composto in esame di inhibire la produzione di radicali viene espressa attraverso la seguente formula:

$$(1 - A_0/A_c) \times 100$$

In cui  $A_0$  e  $A_c$  sono, rispettivamente, i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame assieme a DPPH e della soluzione contenente solo DPPH.

Il composto da utilizzare secondo la presente invenzione non soddisfa il test 4 se la capacità di inhibire la produzione di radicali, come sopra definita, è uguale o maggiore del 50%. Nella Tabella V sono riportati i risultati ottenuti con le seguenti sostanze: N-acetilcisteina, cisteina, acido ferulico, (L)-carnosina, acido gentisico, acido 4-tiazolidin carbossilico e acido 2-oxo-4-tiazolidincarbossilico.

La Tabella V mostra che:

- N-acetilcisteina, cisteina, acido ferulico, (L)-carnosina, acido gentisico soddisfanno il test 4 in quanto inhibiscono la produzione di radicali indotta da DPPH in misura maggiore del 50%, pertanto non possono essere usati come

precursori di B o di B<sub>1</sub> dei composti dell'invenzione.

- L'acido 4-tiazolidin carbossilico e l'acido 2-oxo-4-tiazolidin carbossilico non soddisfanno il test 4 in quanto non inibiscono la produzione di radicali da DPPH, e pertanto possono essere usati come precursori dei composti B o di B<sub>1</sub> secondo la presente invenzione, se soddisfanno il successivo test 5.

#### ESEMPLO F5

~~Test 5: inibizione della produzione di radicali da Fe<sup>II</sup> da parte di composti usati come precursori di B, B<sub>1</sub> o di C = -T<sup>c</sup>-Y-H~~

Aliquote da 0,1 ml di soluzioni in metanolo di acido 4-

tiazolidin carbossilico e acido 2-oxo-4-tiazolidin carbossilico a concentrazione finale 10<sup>-4</sup> M vengono aggiunte a una soluzione formata da 0,2 ml di 2 mM desossiribosio, 0,4 ml di tampone fosfato pH 7,4 100 mM e 0,1 ml 1 mM di Fe<sup>II</sup>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> in 2 mM HCl. Le provette contenenti le miscele di reazione vengono quindi conservate a 37°C per un'ora. Vengono poi aggiunti in ogni provetta, nell'ordine, 0,5 ml di una soluzione 2,8% in acqua di acido tricloroacetico e 0,5 ml di una soluzione acquosa 0,1 M di acido tiobarbiturico. Viene costituito un bianco in cui si aggiunge la stessa aliquota di 0,1 ml di metanolo senza i composti in esame. Si chiudono le provette e si scalda in bagno di olio a 100°C per 15 minuti. Si sviluppa una colorazione rosa la cui intensità è proporzionale alla degradazio-

ne ossidativa del desossiribosio. Si raffredda a temperatura ambiente e si determina l'assorbanza delle soluzioni a 532 nm. La percentuale di inibizione del precursore di B o di B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>c</sub>-Y-H verso la produzione di radicali da Fe<sup>II</sup> viene calcolata attraverso la formula:

$$(1 - A_0/A_c) \times 100$$

in cui A<sub>0</sub> e A<sub>c</sub> sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e il sale di

ferro e quella della soluzione contenente solo il sale di fer-

ro.

I risultati sono riportati in Tabella III, che mostra che entrambi gli acidi soddisfanno il test 5 in quanto inibiscono la produzione di radicali da parte di Fe<sup>II</sup> in percentuale maggiore del 50%. Quindi l'acido 4-tiazolidin carbossilico e l'acido 2-oxo-4-tiazolidin carbossilico possono essere usati come precursori di B, B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>c</sub>-Y-H, per ottenere i composti della presente invenzione.

#### ESEMPIO #6

Test di tollerabilità gastrica dei composti secondo l'invenzione rispetto ai corrispondenti farmaci precursori in condizioni di distensione endoteliale indotta da L-NAME (N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginine-methyl ester)

E' stato ripetuto l'esempio #3 valutando la tollerabilità

gastrica dei seguenti farmaci precursori e dei corrispondenti derivati secondo la presente invenzione:



- Diclofenac e corrispondente derivato secondo l'es. 4.
- Ambroxolo e corrispondente derivato secondo l'es. 7.
- Alendronato e corrispondente derivato secondo l'es. 6.
- Tacrina e corrispondente derivato secondo l'es. 5.

I risultati in Tabella VI indicano che l'incidenza della gastropatia, somministrando i composti dell'invenzione, a parità di dose con il farmaco di partenza, scompare o si riduce

notevolmente.

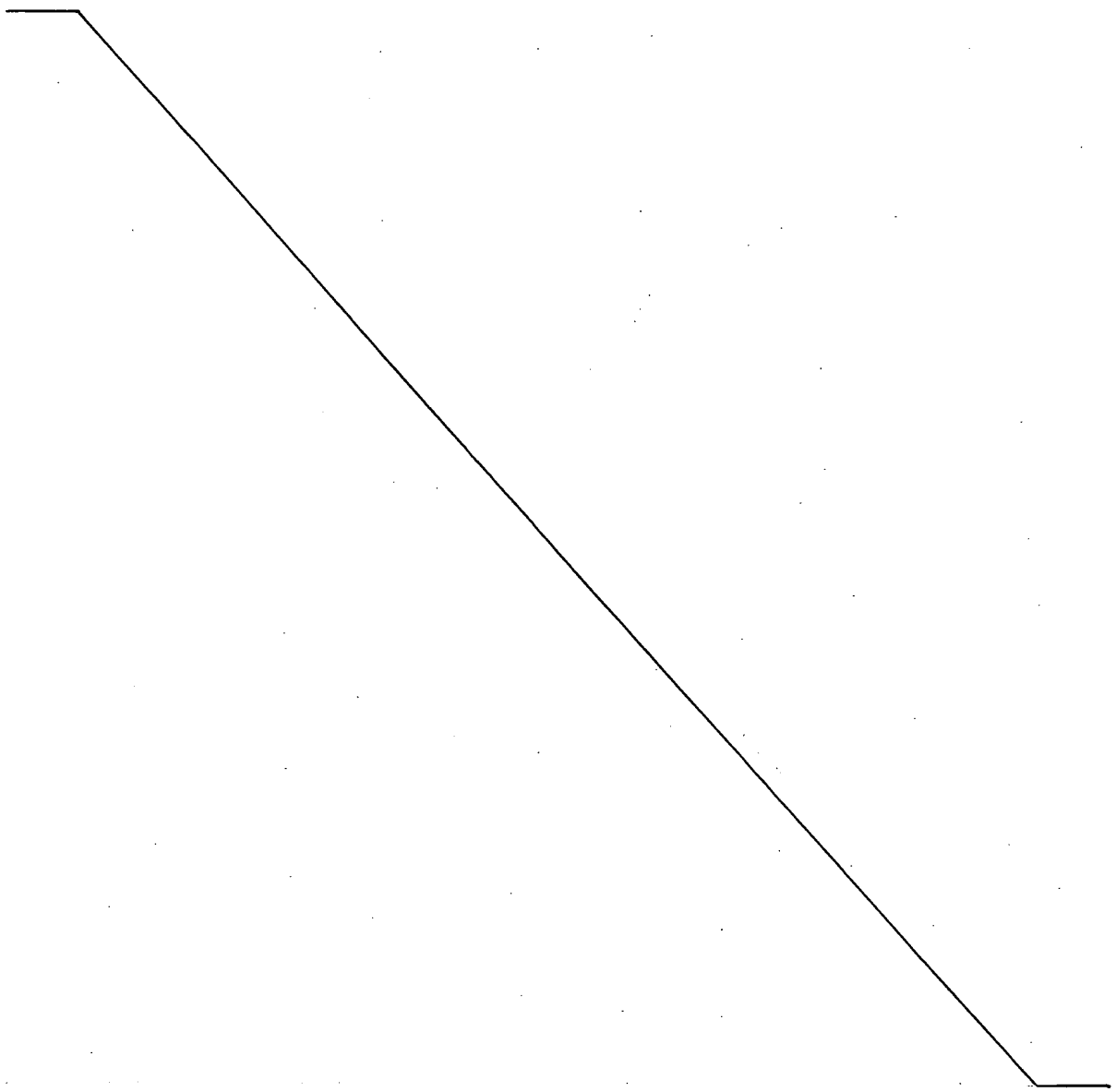




Tabella I

Test 1 : tollerabilità gastrica di farmaci rappresentativi delle classi di farmaci illustrate nella presente invenzione in condizioni normali o di stress ossidativo scatenato dalla somministrazione di NEM La % viene calcolata dal rapporto tra il numero di animali trovati con lesioni gastriche e quello totale del gruppo

Composto	dose (mg/kg) /via somm.	Gastro-enteropatia (% incidenza)
----------	----------------------------	-------------------------------------

veicolo	7,5/p.o.	0	0
Indometacina	25/p.o.	0	100
Ambroxolo	750/i.c.	0	80
Mesalamina	15/p.o.	0	90
Alendronato	1/s.c.	0	100
Tacrina	30/s.c.	0	0
omeprazolo	0,5/s.c.	0	0
misoprostol			

p.o. = per via orale; i.c. = per via intracolonica;  
s.c. = per via sottocutanea.

Tabella II

<p>Test 2 : inibizione dell'apoptosi (frammentazione DNA)  indotta nelle cellule endoteliali da CIP di composti  rappresentativi delle classi di farmaci illustrate nella  presente invenzione.</p>		Composto		Apoptosi rispetto ai controlli trattati soltanto con CIP	
Indometacina		95			
Paracetamolo	120				
Clopidogrel	110				
Salbutamolo	90				
Ambroxolo	70				
Alendronato	160				
Difilina	95				
Cetirizina	115				
Enalapril	80				
Nicotinamide	98				
Ampicillina	94				
Aciclovir	95				
Mesalamina	74				
Tacrina	90				
Simvastatina	72				
Omeprazolo	90				

Tabella III

Test 5 : studio della capacità di alcune sostanze di inibire la produzione di radicali indotta da Fe <sup>II</sup> .	
Composto	% inibizione radicali da Fe <sup>II</sup>
bianco	0
Acido 2-oxo-4-tiazolidin carbossilico	100
Acido 4-tiazolidin carbossilico	100

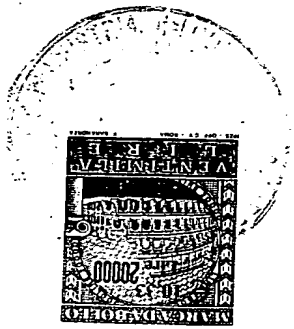


Tabella IV

Test 3 : Tollerabilità gastrica (incidenza danno gastrointestinale), epatica (dosaggio GPT, transaminasi glutamico-piruvica), e cardiovascolare (pressione ematica) di alcuni composti rappresentativi delle classi di farmaci illustrate nella presente invenzione in condizioni di disfunzione endoteliale indotta da L-NAME.

I risultati relativi alla pressione ematica e GPT sono espressi come valori % rispetto a quelli trovati negli animali trattati con solo veicolo, senza L-NAME.

Composto	dose mg/Kg /via sommministr.	Pressione ematica%		GPT %		Gastroenteropatia %	
		senza L-NAME	con L-NAME	senza L-NAME	con L-NAME	senza L-NAME	con L-NAME
Veicolo		100	152	100	155	0	30
Paracetamolo	300/i.p.	108	155	180	500	20	90
Doxorubicina	1/i.p.	120	145	195	360	30	100
Simvastatina	50/p.o.	85	148	122	220	0	60
Omeprazolo	30/s.c.	100	150	100	160	0	10
Misoprostol	0,5/s.c.	100	142	100	160	0	5

Tabella V

Test 4 : Screening della capacità di alcune sostanze di inibire la produzione di radicali da parte di DPPH.	
Composto	% inibizione radicali da DPPH
Solvente	0
<del>N-acetilcisteina</del>	<del>100</del>
Cisteina	100
Acido ferulico	100
(L)-carnosina	80
Acido gentisico	80
Acido 2-oxo-4-tiazolidin carbossilico	0
Acido 4-tiazolidin carbossilico	0

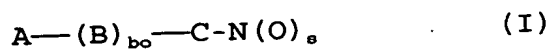
Tabella VI

Studio sulla tollerabilità gastrica condotto su animali non trattati e trattati con L-NAME				
Composto	animali non trattati		animali trattati con L-NAME	
	dose mg/Kg	% gastropatia	dose mg/Kg	% gastropatia
Veicolo	-	0	-	0
Diclofenac (cfr.)	20/p.o.	70	5/p.o.	100
Derivato es. 4	20/p.o.	0	5/p.o.	0
Ambroxolo (cfr.)	100 p.o.	60	25 p.o.	80
Derivato es. 7	100 p.o.	10	25 p.o.	0
Alendronato (cfr.)	100 p.o.	90	15 p.o.	70
Derivato es. 6	100 p.o.	20	15 p.o.	10
Tacrina (cfr.)	10/s.c.	80	1/s.c.	70
Derivato es. 5	10/s.c.	20	1/s.c.	0

## RIVENDICAZIONI

1. Composti o loro sali aventi le seguenti formule generali

(I) e (II):



in cui:

s è un intero uguale ad 1 o 2, preferibilmente  $s = 2$ ;

$bo = 0$  oppure 1;

$A = R-T_1-$ , in cui

R è il radicale del farmaco e

$T_1 = (CO)_t$  oppure  $(X)_{t'}$ , dove  $X = O, S, NR_{1c}, R_{1c}$  è H oppure un alchile lineare o ramificato, avente da 1 a 5 atomi di carbonio, oppure una valenza libera, t e t' sono interi ed uguali a zero oppure 1, con la condizione che  $t = 1$  quando  $t' = 0$ ;  $t = 0$  quando  $t' = 1$ ;

$B = -T_B-X_2-T_{BI}-$  in cui

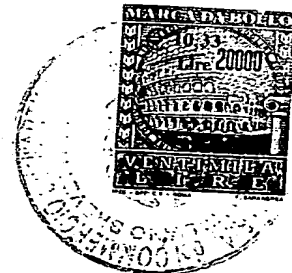
$T_B$  e  $T_{BI}$  sono uguali o diversi;

$T_B = (CO)$  quando  $t = 0$ ,  $T_B = X$  quando  $t' = 0$ , essendo X come sopra definito;

$T_{BI} = (CO)_{tx}$  oppure  $(X)_{txx}$ , in cui  $tx$  e  $txx$  hanno il valore di 0 oppure 1; con la condizione che  $tx = 1$  quando  $txx = 0$ ; e  $tx = 0$  quando  $txx = 1$ ; X è come sopra definito;

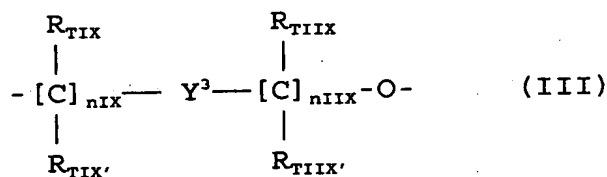
$X_2$  è un pontante bivalente come sotto definito;

C è il radicale bivalente  $-T_c-Y-$ , in cui



$T_c = (CO)$  quando  $tx = 0$ ,  $T_c = X$  quando  $txx = 0$ , essendo  $X$  come sopra definito;

$Y$  é :



in cui:

$nIX$  é un intero compreso tra 0 e 3, preferibilmente 1;

$nIIX$  é un intero compreso tra 1 e 3, preferibilmente 1;

$R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$ , uguali o diversi tra loro sono H oppure alchile lineare o ramificato  $C_1-C_4$ ; preferibilmente  $R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$  sono H.

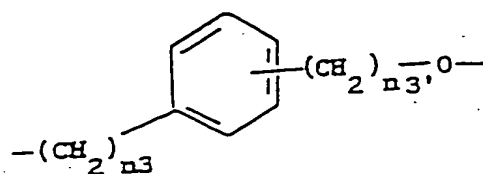
$Y^3$  é un anello eterociclico contenente uno o due atomi di azoto, saturo, insaturo o aromatico, a 5 o 6 atomi,

oppure  $Y$  é  $Y_0$ , scelto tra i seguenti:

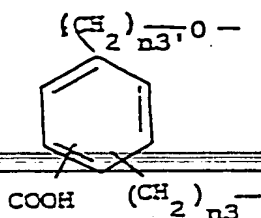
- un gruppo alchilenossi  $R'O$  in cui  $R'$  é  $C_1-C_{20}$  lineare o ramificato quando possibile, avente preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio, oppure un cicloalchilene avente da 5 a 7 atomi di carbonio, nell'anello cicloalchilenico uno o più atomi di carbonio possono essere sostituiti da eteroatomi, l'anello può avere catene laterali di tipo  $R'$ , essendo  $R'$  come sopra



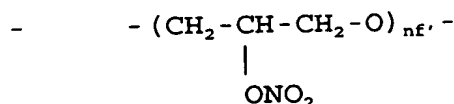
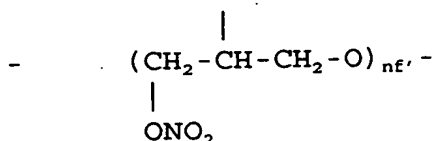
definito; oppure



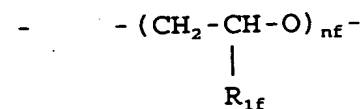
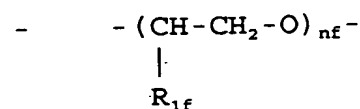
in cui  $n3$  è un intero da 0 a 3 ed  $n3'$  è un intero da 1 a 3;



in cui  $n3$  ed  $n3'$  hanno il significato sopra indicato



in cui  $nf'$  è un intero da 1 a 6 preferibilmente da 1 a 4;

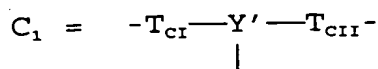


in cui  $R_{1f} = \text{H}, \text{CH}_3$  e  $nf$  è un intero da 1 a 6; preferibilmente da 1 a 4;

preferibilmente  $Y = Y_0 = \text{---R'O---}$  in cui  $R'$  è come sopra definito, preferibilmente  $R'$  è un alchile  $C_1\text{---}C_6$ ;



in cui:



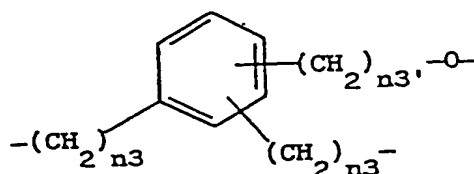
in cui  $\text{T}_{\text{CI}}$  e  $\text{T}_{\text{CII}}$  sono uguali o diversi,

$\text{T}_{\text{CI}} = (\text{CO})$  quando  $t = 0$ ,  $\text{T}_{\text{CI}} = \text{X}$  quando  $t' = 0$ , essendo  $\text{X}$  come sopra definito;

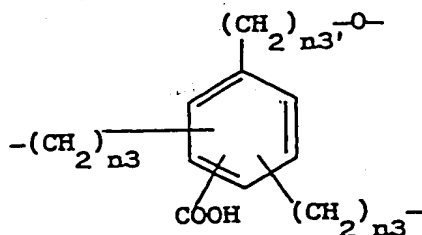
$\text{T}_{\text{CII}} = (\text{CO})_{t\text{I}}$  oppure  $(\text{X})_{t\text{II}}$ , in cui  $t\text{I}$  e  $t\text{II}$  hanno il valore di 0 oppure 1; con la condizione che  $t\text{I} = 1$  quando  $t\text{II} = 0$ ;  $t\text{I} = 0$  quando  $t\text{II} = 1$ ;  $\text{X}$  é come sopra definito;

$\text{Y}'$  é come  $\text{Y}$  sopra definito, ma con tre valenze libere, invece di due, preferibilmente:

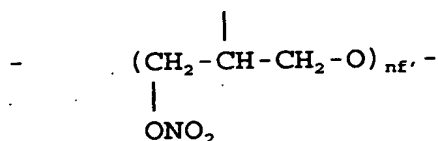
- un gruppo  $-\text{R}'\text{O}-$  in cui  $\text{R}'$  é come sopra definito, preferibilmente un alchile da 2 a 6 atomi di carbonio; oppure



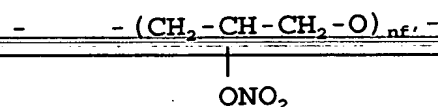
in cui  $n3$  é un intero da 0 a 3 ed  $n3'$  é un intero da 1 a 3;



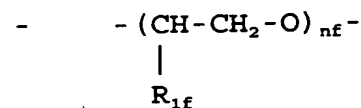
in cui  $n_3$  ed  $n_3'$  hanno il significato sopra indicato;



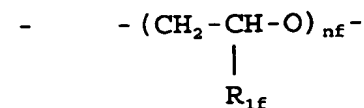
in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una valenza libera;



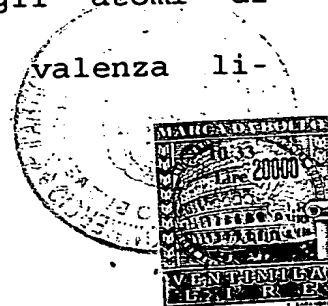
in cui  $nf'$  è un intero da 1 a 6 preferibilmente da 1 a 4; in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una valenza libera;



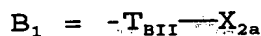
in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una valenza libera;



in cui  $R_{1f} = \text{H, CH}_3$  e  $nf$  è un intero da 1 a 6; preferibilmente da 1 a 4; in cui un atomo di idrogeno su uno degli atomi di carbonio é sostituito da una valenza libera;



preferibilmente  $Y' = -R'O-$  in cui  $R'$  è  $C_2-C_4$  lineare o ramificato, l'ossigeno che in  $Y'$  è legato covalentemente al gruppo  $-N(O)_2$  si trova all'estremità del legame libero indicato nella formula di  $C_1$ ;



in cui  $X_{2a}$  è un radicale monovalente come sotto definito,

$T_{BII} = (CO)$  quando  $tI = 0$ ,  $T_{BII} = X$  quando  $tII = 0$ ,

~~essendo  $X$  come sopra definito;~~

- $X_2$ , radicale bivalente, è tale che il corrispondente precursore di  $B$ ,  $-T_B-X_2-T_{BI}-$  soddisfa il test 5 ma non il test 4, precursore in cui le valenze libere di  $T_B$  e di  $T_{BI}$  sono saturate ciascuna con  $-OZ$ ,  $-Z$ , oppure con  $-Z^I-N-Z^{II}$ , essendo  $Z^I$  e  $Z^{II}$  uguali o diversi e hanno i valori di  $Z$  come sotto definito, a seconda che  $T_B$  e/o  $T_{BI} = CO$  oppure  $X$ , in funzione dei valori di  $t$ ,  $t'$ ,  $tx$  e  $txx$ ;
- il precursore di  $C$  quando  $b0 = 0$  è del tipo  $-T_C-Y-H$  in cui la valenza libera di  $T_C$  è saturata con  $-OZ$ ,  $-Z$ , oppure con  $-Z^I-N-Z^{II}$ , essendo  $Z^I$  e  $Z^{II}$  come sopra definiti, soddisfa il test 5;
- $X_{2a}$  radicale monovalente, tale che il corrispondente precursore di  $B_1$   $-T_{BII}-X_{2a}$  soddisfa il test 5 ma non il test 4, precursore in cui la valenza libera di  $T_{BII}$  è saturata con  $-OZ$ ,  $-Z$  con  $-Z^I-N-Z^{II}$ , essendo

$Z^I$  e  $Z^{II}$  uguali o diversi e hanno i valori di  $Z$  come sotto definito, a seconda che  $T_{BII} = CO$  oppure  $X$ , in funzione dei valori di  $tI$  e  $tII$ ;

- il farmaco  $A = R-T_1-$ , in cui la valenza libera é saturata come di seguito indicato:

- quando  $t' = 0$  con:

- $O-Z$  in cui  $Z = H$  oppure  $R_{1a}$ , essendo  $R_{1a}$   
 $C_1-C_{10}$  = alchile lineare o ramificato quan-

~~do possibile, preferibilmente  $C_4-C_6$ , oppu-~~

re con

- $Z^I-N-Z^{II}$ , essendo  $Z^I$  e  $Z^{II}$  come sopra  
 $\quad \quad \quad |$   
 definiti;

- quando  $t = 0$  con  $-Z$ , in cui  $Z$  é come sopra definito, con la condizione che il farmaco non sia uno steroide,

é tale da soddisfare ad almeno uno dei test 1-3;

in cui il test 1 (NEM) é un test in vivo eseguito su due gruppi di ratti di cui uno solo é trattato con una dose di 25 mg/kg s.c. di N-etilmaleimide (NEM), somministrando a ognuno dei due gruppi il solo veicolo o il veicolo + il farmaco  $A = R-T_1-$  in cui la valenza é saturata come sopra indicato, somministrando il farmaco a una dose equivalente a quella massima tollerabile dai ratti non pretrattati con NEM, vale a dire la dose più alta somministra-

bile all'animale alla quale non si abbia tossicità manifesta cioè osservabile sintomatologicamente; il farmaco soddisfa il test 1, cioè può essere utilizzato per preparare i composti di formula generale (I) e (II), quando il gruppo di ratti trattati con NEM e farmaco presenta danni gastrointestinali, o nel gruppo trattato con NEM e farmaco si riscontrano danni gastrointestinali maggiori rispetto al gruppo

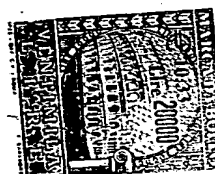
---

trattato con il solo veicolo, al gruppo trattato con veicolo + farmaco, al gruppo trattato con veicolo + NEM;

in cui il test 2 (CIP) è un test in vitro in cui cellule endoteliali umane della vena ombelicale vengono coltivate in condizioni standard, divise in due gruppi, di cui uno è trattato con una dose del farmaco a concentrazione  $10^{-4}$  M, l'altro gruppo con il veicolo; poi si somministra ai due gruppi una concentrazione 5 mM di CIP (cumene idroperossido), ogni prova è ripetuta 5 volte; il farmaco soddisfa il test, cioè può essere utilizzato per preparare i composti di formula generale (I) e (II), se non si ottiene una inibizione della apoptosi (danno cellulare) indotta da CIP statisticamente significativa con  $p < 0,01$  rispetto al gruppo trattato con il veicolo e CIP;

in cui il test 3 (L-NAME:) é un test in vivo eseguito su due gruppi di ratti di cui uno solo riceve per 4 settimane acqua da bere con N- $\omega$ -nitro-L-arginina metil estere (L-NAME) alla concentrazione di 400 mg/litro, somministrando a ognuno dei due gruppi il solo veicolo o il veicolo + il farmaco, somministrando il farmaco una volta al giorno alla dose massima tollerabile dal gruppo di ratti non pretratto con L-NAME, vale a dire la dose più alta somministrabile agli animali alla quale non si abbia tossicità manifesta cioè osservabile sintomatologicamente; determinando la pressione ematica 24 ore dopo la somministrazione del farmaco, la glutammico piruvico transaminasi del plasma (GPT) ed esaminando il tessuto gastrico; il farmaco soddisfa il test 3, cioè può essere utilizzato per preparare i composti di formula generale (I) e (II), quando nel gruppo di ratti trattati con L-NAME e il farmaco si riscontrano danni epatici (GPT) e/o gastrici e/o cardiovascolari (pressione ematica) maggiori rispetto al gruppo trattato con il solo veicolo, al gruppo trattato con veicolo + farmaco, al gruppo trattato con veicolo + L-NAME;

in cui il test 4, che non deve essere soddisfatto dai precursori come definiti di B o di B<sub>1</sub> é



il seguente: é una determinazione analitica eseguita aggiungendo aliquote di soluzioni metanoliche a concentrazione  $10^{-4}$  M del precursore di B o di B<sub>1</sub> a una soluzione metanolica di DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl - free radical); dopo aver conservato la soluzione a temperatura ambiente e al riparo dalla luce per 30 minuti, si legge l'assorbanza della soluzione in esame e di una soluzione contenente so-

lamente DPPH nella stessa quantità, alla lunghezza d'onda di 517 nm; poi si determina la percentuale di inibizione del precursore di B o di B<sub>1</sub> verso la produzione di radicali indotta da DPPH attraverso la formula:

$$(1 - A_s/A_c) \times 100$$

in cui A<sub>s</sub> e A<sub>c</sub> sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e DPPH e quello della soluzione contenente solo DPPH, il test 4 é soddisfatto dai composti precursori se la percentuale di inibizione come sopra definita é maggiore o uguale al 50%; il precursore di B o di B<sub>1</sub> non deve soddisfare il test 4;

in cui il test 5 é il seguente: é una determinazione analitica eseguita aggiungendo aliquote di soluzioni metanoliche a concentrazione  $10^{-4}$  M del precursore di B o di B<sub>1</sub> o di C = -T<sub>c</sub>-Y-H a una so-



luzione contenente aliquote di una soluzione 2 mM di desossiribosio in acqua, di 100 mM di tampone fosfato e 1 mM del sale misto  $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ ; dopo aver condizionato la soluzione a 37°C per un'ora si aggiungono, nell'ordine, aliquote di acido tricloroacetico 2,8% e di acido tiobarbiturico 0,5 M, si scalda a 100°C per 15 minuti e si legge l'assorbanza della soluzione in esame a 532 nm; poi si de-

~~termina la percentuale di inibizione del precursore~~

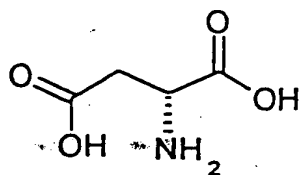
di B o di  $B_1$  o di C =  $-\text{T}_c\text{-Y-H}$  verso la produzione di radicali attraverso la formula:

$$(1 - A_s/A_c) \times 100$$

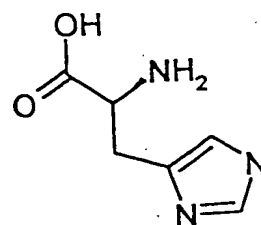
in cui  $A_s$  e  $A_c$  sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e il sale di ferro e quella della soluzione contenente solo il sale di ferro, il composto soddisfa il test 5 quando la percentuale di inibizione come sopra definita del precursore di B o di  $B_1$  o di C =  $-\text{T}_c\text{-Y-H}$  é maggiore o uguale al 50%.

2. Composti secondo la rivendicazione 1 in cui il composto precursore di B o di  $B_1$  é scelto tra i seguenti composti:

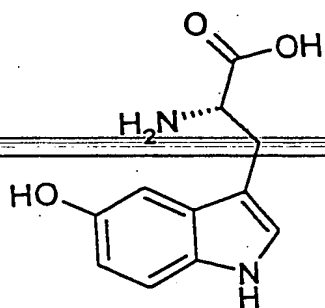
- aminoacidi: acido aspartico (PI), istidina (PII), 5-idrossitriptofano (PIII), acido 4-tiazolidincarbossilico (PIV), acido 2-oxo-4-tiazolidincarbossilico (PV)



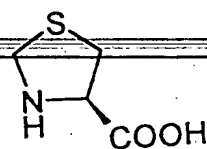
(PI)



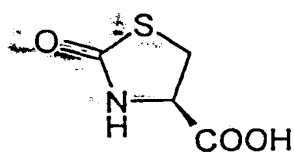
(PII)



(PIII)

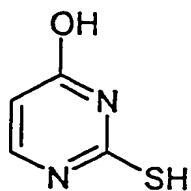


(PIV)

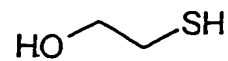


(PV)

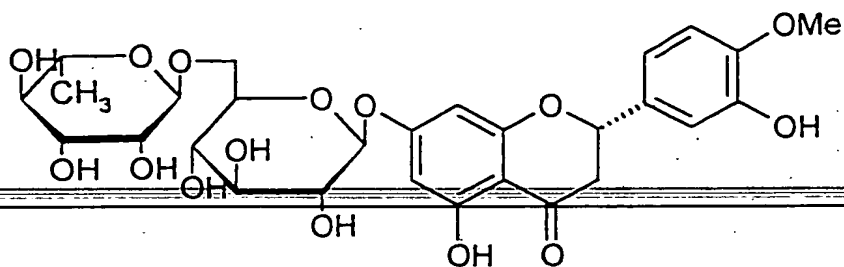
- mono e polialcooli o tioli: 2-tiouracile (QI), 2-mercaptoetanolo (QII), esperidina (QIII), secalciferolo (QIV), 1- $\alpha$ -OH vitamina D2 (QV), flolocalcitriolo (QVI), 22-oxacalcitriolo (QVII), il derivato della vitamina D3 esterificato con il radicale della vitamina A (QVIII), il composto di formula (QIX), 24,28-metilene-1 $\alpha$ -idrossivitamina D2 (QX) il composto derivato dalla 1 $\alpha$ ,25-diidrossivitamina D2 (QXI), 2-mercaptoimidazolo (QXII)



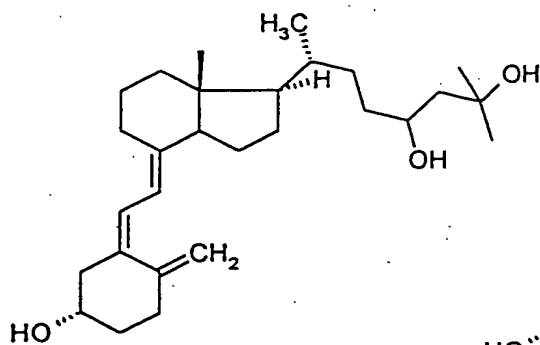
(QI)



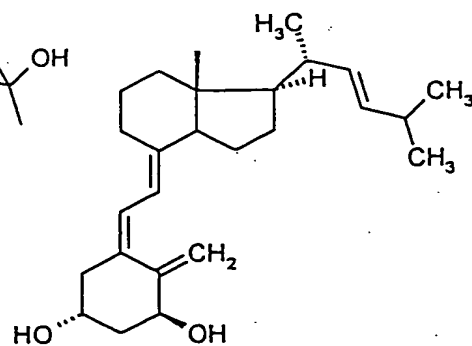
(QII)



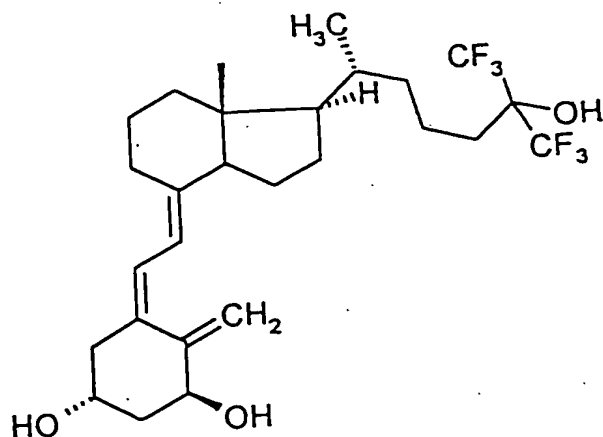
(QIII)



(QIV)

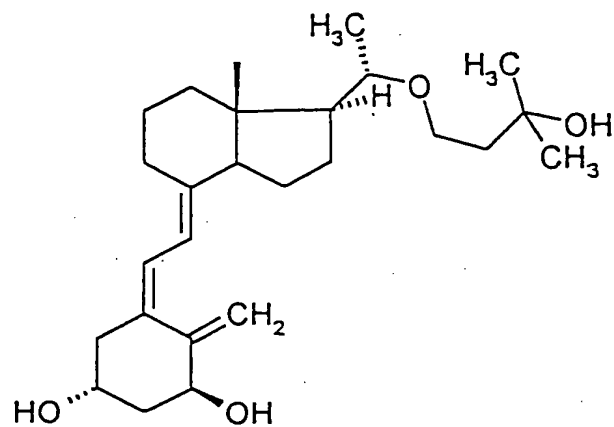


(QV)

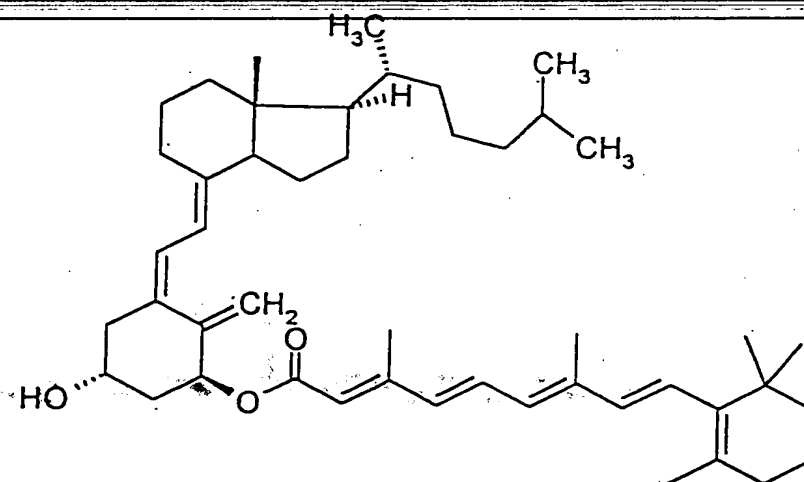


(QVI)

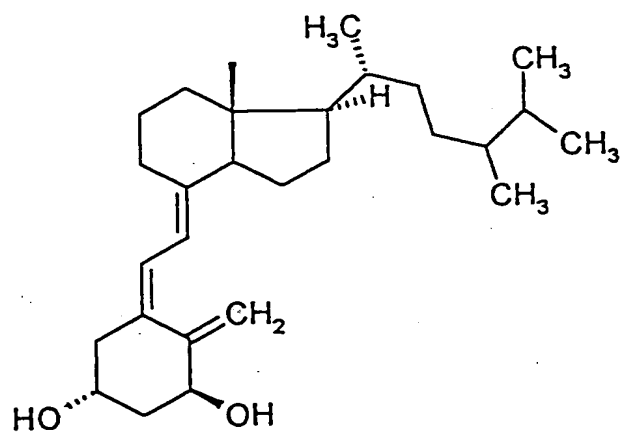




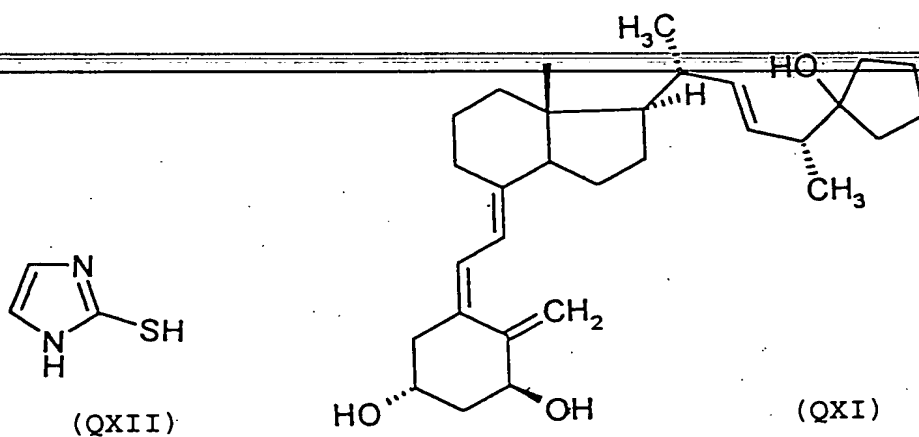
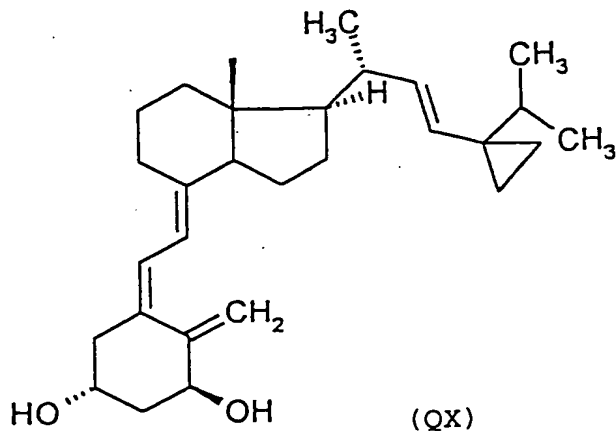
(QVII)



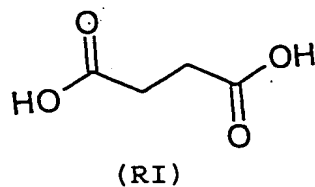
(QVIII)



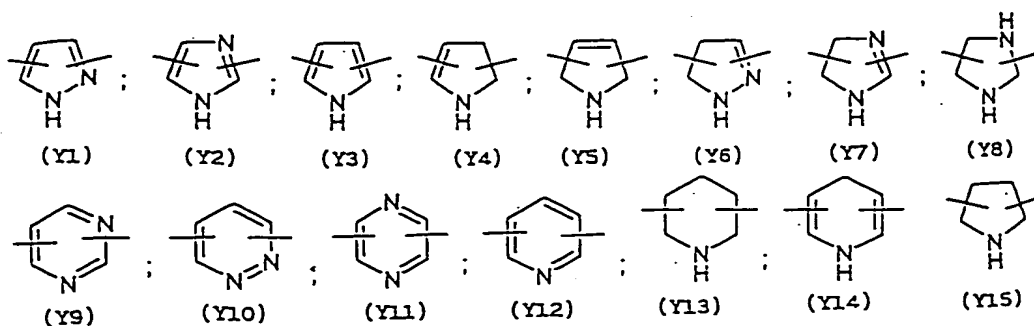
(QIX)



- acido succinico (RI)



3. Composti secondo le rivendicazioni 1-2 in cui Y<sup>3</sup> in formula (III) é scelto fra i seguenti:

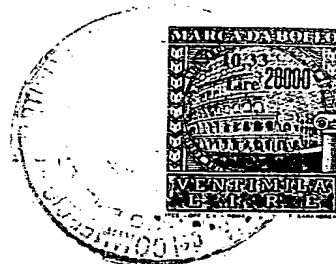


4. Composti secondo la rivendicazione 3 in cui  $Y^3$  é  $Y^{12}$  (piridile) sostituito in posizione 2 e 6.
5. Composti secondo le rivendicazioni 1-4 in cui i i farmaci precursori dei composti di formula (I) e (II) sono scelti tra i seguenti: antiinfiammatori, analgesici, broncodilatatori, espettoranti-mucolitici, antiasmatici-antiallergici, antiistaminici, ACE-inibitori, beta bloccanti, antitrombotici, vasodilatatori, antidiabetici, antitumorali, antiulcera, farmaci antiiperlipidemici, antibiotici, antivirali, inibitori del riassorbimento osseo, farmaci antidemenza.
6. Composti secondo la rivendicazione 5, in cui i farmaci precursori sono scelti tra i seguenti:

antiinfiammatori: aceclofenac, acemetacin, acido acetilsalicilico, alclofenac, alminoprofen, amfenac, bendazac, bermoprofen,  $\alpha$ -bisabolol, bromfenac, bromosaligenin, acido bucloxico, butibufen, carprofen, cinmetacin, clidanac, clopirac, diclofenac sodico, diflunisal, ditalzol, acido enfenamico, etodolac, etofenamato, felbinac, fenbufen, acido fenclozico, fendosal, fenoprofen, fentiazac, fepradinol, acido flufenamico, flunixin, flunoxaprofen, flurbiprofen, glucametacin, glicol salicilato, ibuprofen, ibuproxam, indometacin, indoprofen, isofezolac, isoxepac, isoxicam, ketoprofen, ketorolac, lornoxicam, loxoprofen, acido meclofenamico, acido mefenamico, melo-

xicam, mesalamina, acido metiazinico, mofezolac, naproxen, acido niflumico, oxaceprol, oxaprozin, oxifenbutazone, parsalmide, perisoxal, fenil acetilsalicilato, pirazolac, piroxicam, pirprofen, pranoprofen, acido protizinnico, salacetamide, acido salicilamide O-acetico, acido salicilsolforico, salsalato, sulindac, suprofen, suxibuzone, tenoxicam, acido tiaprofenico, tiaramide, tinoridina, acido tolfenamico, tolmetin, tropesin, xenbucin, ximoprofen, zaltoprofen, zomepirac, tomexiprolo;

analgesici: acetaminophen, acetaminosalol, amino-chlorthenoxazin, acido acetilsalicilico 2-amino-4-picoline, acido acetilsalicilsalicilico, anileridina, benoxaprofen benzilmorfina, acido 5-bromosalicilico acetato, bucetin, buprenorfina, butorfanolo, capsaicina, cinchophen, ciramadol, clometacin, clonixin, codeina, desomorphine, dezocine, diidrocodeina, diidromorfina, dimepheptanol, dipyroceryl, eptazocine, ethoxazene, etilmorfina, eugenolo, floctafenina, fosfosal, glafenina, hydrocodone, hydromorphone, hydroxypethidine, ibufenac, p-lactophenetide, levorphanol, meptazinol, metazocine, metopon, morfina, nalbuphine, nicomorfina, norlevorphanol, normorfina, oxycodone, oxymorfone, pentazocina, fenazocina, fenocoll, fenoperidine, fenilbutazone, fenilsalicilato, fenilramidol, salicin, salicilamide, tiorphan, tramadol, diacereina, actarit;



broncodilatatori: acefillina, albuterolo, bambuterolo, bamifillina, bevonium methyl sulfate, bitolterolo, carbuterolo, clenbuterolo, clorprenalina, dioxethedrine, difillina, efedrina, epinefrina, eprozinol, etafredine, ethylnorepinephrine, etofillina, fenoterolo, flutoprium bromide, hexoprenaline, ipratropium bromide, isoetharine, isoprotenerolo, mabuterolo, metaproterenolo, oxitropium bromide, pirbuterol, procaterolo, protokylol, proxyphyl-line, reproterolo, rimiterolo, salmeterolo, soterenolo, terbutalina, acido l-teobromoacetico, tiotropium bromide, tretoquinolo, tulobuterolo, zaprinast;

espettoranti/mucolitici: ambroxolo, bromexina, domiodol, erdosteine, guaiacol, guaifenesin, glicerolo iodurato, letosteine, mesna, sobrerolo, stepronin, terpin, tiopronin;

antiasmatici/antiallergici antiistaminici: acrivastine, alloclamide, amlexanox, cetirizine, clobenzepam, cromoglicato, cromolyn, epinastine, fexofenadine, formoterol, istamina, hydroxyzine, levocabastina, lodoxamide, mabuterolo, metron s, montelukast, nedocromil, repirinast, seratrodist, suplatast tosilato, terfenadine, tiaramide, urushiol, bromexina;

ACE-inibitori: alacepril, benazepril, captopril, ceronapril, cilazapril, delapril, enalapril, enalaprilat, fosinopril, imidapril, lisinopril, losartan, moveltipril,



naftopidil, perindopril, quinapril, ramipril, spirapril, temocapril, trandolapril, urapidil;

beta bloccanti: acebutololo, alprenololo, amosulalolo, arotinololo, atenololo, betaxololo, bevantololo, bucumololo, bufetololo, bufuralolo, bunitrololo, bupranololo, butofilolo, carazololo, carteololo, carvedilolo, celiprololo, cetamololo, dilevalolo, epanololo, esmololo, indenololo, labetalolo, mepindololo, metipranololo, me-

~~toprololo, meprelolo, nadololo, nadoxololo, nebitololo,~~

nifenalolo, nipridalolo, oxprenololo, penbutololo, pindololo, practololo, pronetalolo, propranololo, sotalolo, sulfinalolo, talinololo, tertatololo, tilisololo, timololo, toliprololo, xibenololo;

antitrombotici e vasodilatatori: acetorphan, acido acetilsalicilico, argatroban, bamethan, benfurodil emissuccinato, benziodarone, betahistine, brovincamine, bufeniode, citicolina, clobenfuroil, clopidogrel, cyclandelate, dalteparin, dipiradamolo, droprenilamine, enoxaparin, fendiline, ifenprodil, iloprost, indobufen, isbogrel, isoxsuprine, lamifiban, nadroparin, nicotinoil alcol, nylidrin, ozagrel, perhexiline, prenilamina, papaverolina, reviparin sale sodico, ridogrel, suloctidil, tinofedrine, tinzaparin, triflusal, xanthinol niacinate;

antidiabetici: acarbose, carbutamide, glibornuride glybuthiazol(e), miglitol, repaglinide, troglitazone,

1-butyl-3-metanyl-urea, tolrestat, nicotinamide;

antitumoral: ancitabina, anthramicina, azacitidina, azaserina, 6-azauridina, bicalutamide, carubicina, carzinophilin, chlorambucil, chlorozotocin, citarabina, daunorubicina, defosfamide, demecolcina, denopterina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, docetaxel, doxifluridina, doxorubicina, droloxifene, edatrexato, eflornithine, enocitabine, epirubicina, epitiostanol, etanidazole, etoposide, fenretinide, fludarabine, fluorouracile, gemcitabine, hexestrol, idarubicina, lonidamine, mannomustine, melphalan, menogaril, 6-mercaptopurina, methotrexate, mitobronitol, mitolactol, mitomycins, mitoxantrone, mopidamol, mycophenolic acid, ninopterin, nogalamycin, paclitaxel, pentostatin, pirarubicin, piritrexim, plicamycin, acido podofillico, porfimer sodium, porfiromycin, propagermanium, puromycin, ranimustine, acido retinoico, roquini-mex, streptonigrin, streptozocin, teniposide, acido tenuazonico, thiamiprine, tioguanina, tomudex, topotecan, trimetrexate, tubercidin, ubenimex, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, zorubicina;

antiulcera: acido  $\epsilon$ -acetamidocaproico, arbaprostil, cetraxate, cimetidina, ecabet, enprostil, esaprazole, irsogladine, misoprostol, omeprazole, ornoprostil, pantoprazole, plaunotol, rioprostil, rosaprostol, rotraxate, sofalcone, trimoprostil;

antiiperlipidemici: atorvastatina, cilastatina, dermostatina, fluvastatina, lovastatina, mevastatina, nystatina, pentostatina, pepstatina, privastatina sale sodico, simvastatina;

antibiotici: amdinocillina, amoxicillina, ampicillina, apalcillina, apicyclina, aspoxicillin, azidamfenicol, azidocillina, azlocillina, aztreonam, benzoilpas, acido benzil penicillinico, biapenem, bicozamycin, capreomycina, carbenicillina, carindacillina, carumonam, cefaclor,

cefadroxil, cefamandole, cefatrizina, cefazedone, cefazolina, cefbuperazone, cefclidin, cefdinir, cefditoren, cefepime, cefetamet, cefixime, cefmenoxime, cefmetazole, cefminox, cefodizime, cefonicid, cefoperazone, ceforamide, cefotaxime, cefotetan, cefotiam, cefoxitin, cefozopran, cefpimizole, cefpiramide, cefpirome, cefprozil, cefroxadine, cefsulodin, ceftazidime, cefteram, ceftezo-  
le, ceftibuten, ceftiofur, ceftizoxime, ceftriaxone, cefuroxime, cefuzonam, cephacetrile sodium, cephalixin, cephaloglycin, cephaloridina, cephalosporin C, cephalothin, cephapirin sodium, cephradine, chloramphenicol, chlortetracyclina, cinoxacina, clavulanic acid, clometocillina, cloxacillina, cyclacillina, cycloserina, demeclocyclina, dicloxacillina, epicillina, fenbecillina, flomoxef, floxacillina, hetacillina, imipenem, lenampicillina, loracarbef, lymecycline, mafenide, meclocyclina,



meropenem, metampicillina, methacyclina, methicillina sale sodico, mezlocillina, minocyclina, moxalactam, mupirocin, myxin, negamycina, novobiocina, oxacillina, pampenem, penicillina G sale di potassio, penicillina N, penicillina O, penicillina V, phenethicillina sale di potassio, pipacyclina, piperacillina, pirlimycin, porfirimycina, propicillina, quinacillina, ritipenem, rolitetracycline, sancyclina, sedecamycina, spectinomycina,

---

sulbactam, sulbenicillina, temocillina, tetracyclina, ticarcillina, tigemonam, tubercidina, azitromicina, claritromicina, diritromicina, enviomicina, eritromicina, josamicina, midecamicina, miocamicina, oleandomicina, rifabutina, rifamide, rifamicina, rifaximina, rokitamicina, spiramicina, troleandomicina, viomicina, virginiamicina;

antivirali: aciclovir, amantadina, cidofovir, cytarabina, didanosina, dideoxyadenosina, edoxudina, famciclovir, floxuridine, ganciclovir, idoxuridina, indanavir, kethoxal, lamivudine, MADU, penciclovir, podophyllotoxina, ribavirina, rimantadina, saquinavir, sorivudina, stavudina, trifluridina, valacyclovir, vidarabina, acido xenazoico, zalcitabina, zidovudina;

inibitori del riassorbimento osseo: acido alendronico, acido butedronico, acido etidronico, acido oxidronico, acido pamidronico, acido risedronico;

farmaci antidemenza: amiridina, lazabemide, mofegilina, salbeluzolo, oxiracetam, ipidacrina, nebracetam, tacrina, velnacrina.

7. Composti secondo le rivendicazioni 5-6, in cui i farmaci precursori sono scelti tra i seguenti:

antiinfiammatori: acido acetilsalicilico, carprofen, diclofenac sodico, diflunisal, etodolac, acido flufenamico, flunixin, flurbiprofen, ibuprofen, indometacin, indoprofen, ~~ketoprofen, ketorolac, lornoxicam, loxoprofen,~~

acido meclofenamico, acido mefenamico, meloxicam, mesalamina, naproxen, acido niflumico, piroxicam, salsalato, sulindac, suprofen, tenoxicam, acido tiaprofenico, acido tolfenamico, tolmetin, zomepirac, tomoxiprololo;

analgesici: acetaminophen, acido acetilsalicilico, benoxaprofen, buprenorfina, butorfanolo, capsicina, diacereina, diidrocodeina, etilmorfina, eugenolo, fenilbutazone, meptazinol, morfina, nalbuphine, pentazocina, tiorphan, tramadol, actarit;

broncodilatatori: albuterolo, carbuterolo, clenbuterolo, difillina, etofillina, fenoterolo, ipratropium bromide, metaproterenolo, pirbuterol, salmeterolo, terbutalina, tiotropium bromide, zaprinast;

espettoranti/mucolitici: ambroxolo, bromexina, guaiaicol, sobrerolo;

antiasmatici/antiallergici antiistaminici: cetiri-

zine, cromoglicato, istamina, levocabastina, lodoxamide, montelukast, terfenadine, bromexina;

ACE-inibitori: captopril, enalapril, lisinopril, losartan, ramipril;

beta bloccanti: alprenololo, atenololo, bupranololo, labetalolo, metipranololo, metoprololo, pindololo, propranololo, timololo;

antitrombotici e vasodilatatori: acido acetilsalicylico, acetorphan, argatroban, clopidogrel, dalteparin, dipiridamolo, enoxaparin, iloprost, ozagrel, trifusal;

antidiabetici: tolrestat, nicotinamide;

farmaci antitumorali: antramicina, daunorubicina, doxorubicina, epirubicina, fluorouracile, methotrexate, vinblastina;

farmaci antiulcera: cimetidina, omeprazole, pantoprazole;

farmaci antiiperlipidemici: lovastatina, pravastatina sale sodico, simvastatina;

antibiotici: amoxicillina, ampicillina, aztreonam, biapenem, carbenecillin, cefaclor, cefadroxil, cefamandole, cefatrizina, cefoxitin, clavulanic acid, dicloxacillina, imipenem, meclocycline, methacyclina, moxalactam, panipenem, sulbactam, azitromicina, eritromicina, josamicina, miocamicina, rifabutina, rifamide, rifamicina;

antivirali: aciclovir, famciclovir, ganciclovir,

penciclovir, ribavirin, vidarabine, zidovudine;

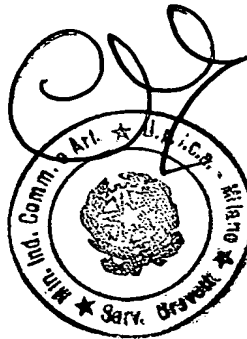
inibitori del riassorbimento osseo: acido alendronico, acido etidronico, acido pamidronico.

8. Composti o sali, o loro composizioni secondo le rivendicazioni 1-7 per uso come medicamento.
9. Impiego dei composti o sali, o loro composizioni secondo le rivendicazioni 1-7 per la preparazione di farmaci per l'applicazione terapeutica stress ossidativo.
10. ~~Formulazioni farmaceutiche contenenti come principio attivo i composti o loro sali delle rivendicazioni 1-7.~~

Milano, **13 APR. 1999**

p. NICOX S.A.

SAMA PATENTS  
*Alessandro Riva*  
(Alessandro Riva)



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**